

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE FARMACIA Y BIO QUÍMICA

E.A.P. DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**Determinación de la actividad antifúngica contra
Candida Albicans y Aspergillus Niger de 10 plantas
medicinales de 3 departamentos del Perú**

TESIS

para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

María Elena Huamaní Achata

Julio Reynaldo Ruiz Quiroz

ASESOR

Mirtha Roque Alcarraz

Lima – Perú

2005

..	1
RESUMEN .	3
SUMMARY ..	5
INTRODUCCIÓN .	7
1. GENERALIDADES .	11
1.1. ASPECTOS BOTANICOS DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO ..	11
1.2. ANTECEDENTES .	28
1.3. AGENTES ANTIFÚNGICOS .	31
2. PARTE EXPERIMENTAL .	35
2.1. MATERIALES Y EQUIPOS ..	35
2.2. MATERIAL BIOLÓGICO ..	36
2.3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA .	36
2.4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS .	38
3. RESULTADOS ..	43
4. DISCUSIÓN .	57
CONCLUSIONES ..	61
RECOMENDACIONES .	63
BIBLIOGRAFÍA .	65
ANEXOS .	73

A Dios nuestro más importante guía, por habernos dado la vida y el valor necesario para afrontarla. A la Dra Mirtha Roque Alcarraz, por su amistad, sus valiosos consejos y el tiempo dedicado, muchas gracias. A los miembros del jurado calificador: Presidente : Q.F. Jose Irey Namijira Miembros : Q. F. Rosario Carreño Quispe Mg. Luis Miguel Felix Veliz Q. F. Maria Elena Salazar Salvatierra Por sus valiosas sugerencias y consejos.

RESUMEN

El presente trabajo investigo la actividad antifúngica in vitro de doce extractos etanolicos correspondientes a diez plantas medicinales peruanas; *Annona cherimolia* Mill.(hojas), *Annona muricata* L.(corteza y hojas), *Bidens pilosa* L.(partes aéreas), *Hypericum laricifolium* L.(partes aéreas), *Juglans neotropica* Diels(corteza), *Piper spp.* (hojas), *Plantago major* L.(hojas), *Psidium guajava* L.(hojas), *Schinus molle* L.(corteza y hojas) y *Spartium junceum* L. (planta entera). Las especies fueron recolectadas en el departamento de Amazonas, excepto *Schinus molle* L. (Apurímac) y *Annona muricata* L. (Lima). La actividad antifúngica se evaluo mediante los métodos de difusión en agar y dilución en agar para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Los microorganismos de prueba utilizados fueron las levaduras *Candida albicans* ATCC 10231 y *Candida albicans* cepa clínica, así como, el hongo filamentoso *Aspergillus niger* ATCC 16404; las cepas fueron proporcionadas por la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. De doce extractos investigados, seis presentaron actividad antifúngica consistente con un diámetro de halos de inhibición #18mm (Prueba de Difusión en agar) frente a *Candida albicans* ATCC 10231. Ningún extracto mostró actividad consistente frente a la cepa clínica de *Candida albicans* y *Aspergillus niger* ATCC 16404. La CMI de los extractos que presentaron actividad consistente frente a *Candida albicans* ATCC 10231, fue de 250 µg/mL para *Hypericum laricifolium* L., *Juglans neotropica* Diels, *Psidium guajava* L. y *Schinus molle* L. (un extracto de corteza y uno de hojas) y de 500µg/mL para *Piper spp.* No se determino la CMI de los extractos (*Juglans neotropica* Diels y *Psidium guajava* L.) que presentaron halos frente al *Aspergillus niger* ATCC 16404 por considerarlos sin actividad significativa (<18mm.). Los antifúngicos Nistatina y Fluconazol fueron incluidos en el estudio como controles positivos.

Palabras clave: Actividad antifúngica, plantas medicinales, plantas del Perú, Amazonas, concentración mínima inhibitoria, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*.

SUMMARY

The present work investigated the antifungal activities in vitro of twelve ethanolic extracts corresponding to ten peruvian medicinal plants; *Annona cherimolia* Mill. (leaves), *Annona muricata* L. (bark and leaves), *Bidens pilosa* L. (aerial parts), *Hypericum laricifolium* L. (aerial parts), *Juglans neotropica* Diels (bark), *Piper spp.* (leaves), *Plantago major* L. (leaves), *Psidium guajava* L. (leaves), *Schinus molle* L. (bark and leaves) and *Spartium junceum* L. (whole plant). The plants were collected in the department of Amazonas, except *Schinus molle* L. (Apurímac) and *Annona muricata* L. (Lima). The antifungal activities were determined by the methods of agar diffusion and agar dilution for the determination of the Minimal Inhibitory Concentration (MIC). The used microorganisms of test were the yeasts *Candida albicans* ATCC 10231 and *Candida albicans* clinical isolate, as well as, the filamentous fungus *Aspergillus niger* ATCC 16404; the microorganism were provided by the Chair of Microbiology of Faculty of Pharmacy and Biochemistry of the Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Of twelve investigated extracts, six presented significant antifungal activity with a diameter of inhibition haloes #18mm (Agar Diffusion) against *Candida albicans* ATCC 10231. No extract showed significant activity against to *Candida albicans* clinical isolate and *Aspergillus niger* ATCC 16404. The MIC of the extracts that presented significant activity against *Candida albicans* ATCC 10231, were of 250µg/mL for *Hypericum laricifolium* L., *Juglans neotropica* Diels, *Psidium guajava* L. and *Schinus molle* L. (bark and leaf extracts) and of 500µg/mL for *Piper spp.* We do not determine the MIC of the extracts (*Juglans neotropica* Diels and *Psidium guajava* L.) that presented haloes against *Aspergillus niger* ATCC 16404 for considering them without significant activity (<18mm.). The antifungal agents Nistatin and Fluconazole were included in the study as positive controls.

Key words: Antifungal activity, medicinal plants, Peruvian plants, Amazonas, minimal inhibitory concentration, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*.

INTRODUCCIÓN

La facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, es pionera en el estudio de plantas medicinales en el país, una de sus líneas maestras de investigación. Es ampliamente conocido que el Perú es uno de los países más megadiversos del mundo (está entre los 12 primeros). Nuestro país en sus diferentes nichos ecológicos ofrece una amplia gama de flora y fauna, y además posee una cultura muy antigua con respecto al uso de las plantas medicinales.

La Amazonía peruana es una de las zonas del planeta con mayor diversidad vegetal: conviven en la zona el 8% del total de especies vegetales, de las cuales menos del 1% han sido estudiadas desde el punto de vista fitoquímico o farmacológico, por lo tanto su estudio podría conducir al descubrimiento de un gran número de nuevas moléculas bioactivas con posible aplicación terapéutica. (1)

En el Perú la complejidad de las cadenas andinas genera una sucesión de pisos ecológicos diversos desde el mar tropical, el desierto, el bosque seco, los bosques templados, la jalca, los valles cálidos (yunga), la ceja de selva (bosques de neblina) y los bosques tropicales amazónicos, depositarios de una composición florística muy rica.(2) Se calcula que el Perú posee unas 25 000 especies de plantas conocidas, con 17 144 especies de plantas con flores (Angiospermas y Gimnospermas), de los cuales 5 354 (31,3%) son especies endémicas (3), distribuidas en 2 458 géneros y 224 familias. En el departamento de Amazonas se registran 3 475 especies, de las cuales 590 (17%) son endémicas. (2) La flora Peruana ofrece grandes posibilidades para el descubrimiento de nuevos compuestos con actividad antifúngica.

En los últimos años, después de un período en que la industria farmacéutica se dedicó exclusivamente a la fabricación de fármacos de síntesis, dejando atrás las antiguas medicinas que tenían como base los extractos de plantas medicinales, hay un cambio cualitativo en los programas industriales con dedicación a la búsqueda de nuevos medicamentos de origen herbario. Estos cambios se han sustentado, por una parte, en una filosofía de la vuelta a la naturaleza que impregna el modo de vivir de los países industrializados y, por otra, en necesidades de salud pública, ya que se ha tornado urgente la búsqueda de moléculas para la fabricación de medicamentos antitumorales y antiSIDA. (4)

El avance de la Fitoterapia como disciplina médica (5) es cada vez mayor, esto se evidencia en que las plantas medicinales representan casi el 25% del total de las prescripciones medicas en países industrializados; en los países en desarrollo la participación de las plantas medicinales en el arsenal terapéutico alcanza el 80%. (6)

En los últimos años hay un incremento en la incidencia de enfermedades fúngicas (7); debido al aumento considerable de pacientes inmunocomprometidos, quimioterapia, nutrición parenteral, cirugía de transplante y el uso de agentes antimicrobianos de amplio espectro, agregados a la presencia de SIDA, dan verdaderas "placas Petri vivientes" individuales, quienes son altamente susceptibles a las infecciones oportunistas. Las infecciones fúngicas sistémicas y dérmicas son la causa de gran morbi-mortalidad en este tipo de pacientes, siendo las dermatomicosis un problema serio para niños de las naciones del tercer mundo como una consecuencia del deficiente cuidado sanitario. (8) Los fármacos disponibles actualmente, tienen una toxicidad importante, producen recurrencia o causan resistencia, razón por la cual se está procurando el uso de nuevos agentes antifúngicos más potentes pero sobretodo más seguros que los existentes actualmente. Desafortunadamente, las células fúngicas y humanas no son muy diferentes. Comparten gran parte de las vías del metabolismo intermediario, utilizan enzimas muy similares y no es fácil encontrar blancos que ofrezcan la selectividad requerida para obtener un antifúngico seguro. (9). Los compuestos derivados de plantas son de interés en este contexto porque ellos comprenden sustitutos más seguros o más eficaces que los agentes antimicrobianos producidos sintéticamente (10), los cuales podrían servir como buenos candidatos para el desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos (antifúngicos en particular) y/o fitomedicinas estandarizadas.

El reino "*Fungi*" es un gran grupo con aprox. 250 000 especies, de las cuales más de 300 especies han sido reportadas potencialmente patógenos para humanos. Las infecciones fúngicas han ido ganando terreno por la morbilidad de pacientes hospitalizados. Aproximadamente 90% de infecciones fúngicas humanas son causadas por *Aspergillus*, *Candida*, *Cladosporium*, *Epidermophyton*, *Trichophyton spp* y *Microsporum*. Los casos que requieren mayor atención son los causantes de micosis sistémicas debidos a: *Aspergillus fumigatus*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Fusarium sp.*, *Histoplasma capsulatum* y *Pneumocystis carinii*. Las cuales se han incrementado en los últimos años. Dasgupta (1 998) reporta un incremento del 400% en las pasadas dos décadas. La frecuencia de candidiasis se ha incrementado 10 veces. Aspergilliosis pulmonar invasiva es la principal causa de muerte atribuible en receptores de transplante de médula ósea. (11).

Por todo lo expuesto, es que se escogió estudiar a un grupo selecto de plantas medicinales, provenientes principalmente del departamento de Amazonas. El resultado del trabajo de investigación contribuye al conocimiento de la actividad antifúngica de las mismas; siendo el punto de partida para la identificación de posibles principios activos, estudios fitofarmacológicos experimentales, identificación de mecanismo de acción molecular, actividad terapéutica en humanos y finalmente las condiciones y limitaciones de uso en un Marco Regulatorio Racional. Esta investigación es el inicio de un largo camino por recorrer el cual como profesionales de la salud debemos seguir.

El presente trabajo fue realizado en el Instituto de Investigación de Química Biológica, Microbiología y Biotecnología "Marco Antonio Garrido Malo" de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Los objetivos de la presente tesis son:

Determinar la actividad antifúngica de los extractos etanólicos, de alguna(s) parte(s) o planta entera según corresponda, de las plantas seleccionadas mediante la prueba de difusión en agar.

Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de los extractos etanólicos de las plantas con actividad antifúngica.

1. GENERALIDADES

1.1. ASPECTOS BOTANICOS DE LAS ESPECIES EN ESTUDIO

Las especies botánicas de la presente tesis fueron identificadas por la Dra. Graciela Vilcapoma Segovia (ver constancia en anexo 1).

1.1.1. *Annona cherimolia* Mill. “CHIRIMOYA”

Clasificación taxonómica

SUPERDIVISION : SPERMATOPHYTA

DIVISION : MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB-CLASE: MAGNOLIIDAE

ORDEN: MAGNOLIALES

FAMILIA: ANNONACEAE

GENERO: *Annona*

ESPECIE: *Annona cherimolia* Mill.

Pertenece a la familia Annonaceae, que es una familia de distribución pantropical que comprende unos 120 géneros y alrededor de 2 000 especies; entre las cuales destaca el género *Annona* con 120 especies. (12) El género *Annona* comprende árboles y arbustos siempre verdes o semicaducifolios, cuyas especies son nativas de África y América Tropical. (12) El vocablo chirimoya deriva de chiri (frío) y moya (simiente) “fruta fría” (13).

Nombres comunes: Cherimoya, chirimoya (quechua), quantaxapotil (azteca), anoona (amuesha), chirimoyo, pomme canelle (francés), anona (portugués), manoa (malasia), fruit of the chaffey (inglés). (13)

Descripción: Árbol pequeño, de 5-7 m de altura, con el tronco recto de corteza lisa y gruesa. Ramaje tendente a colgar, frondoso, emitiendo brotes anuales muy largos.

Hojas persistentes, simples, enteras, de forma oblongo-lanceolada, de 10-25 cm de longitud, alternas, de color verde oscuro y algo pubescentes en el haz y más claras y tomentosas en el envés. Nerviación patente en el envés.

Flores colgantes, solitarias, aromáticas, de unos 2,5 cm de diámetro. Cáliz de tres sépalos triangulares, verdosos y corola de tres pétalos. Estambres numerosos, solitarias o agrupadas en número de 2-3 en las axilas de las hojas del año previo y hasta que no se cae la hoja esa yema no puede desarrollarse (está protegida por el peciolo de la hoja). Presentan tres pétalos muy carnosos de color verde crema, poco atractivos, que rodean un cono que contiene de 100 a 200 carpelos.

Fruto grande, carnoso, de forma que depende de la variedad, pero en general algo cónico-globoso, de unos 7-12 cm de longitud, de color verde, con la superficie reticulada por marcas características. Contiene semillas negruzcas, aplastadas, de 1-1.5 cm de longitud. (12)

Distribución Geográfica: El chirimoyo es originario de las zonas subtropicales de Sudamérica, de la zona andina limítrofe entre Ecuador y Perú, donde crece en altitudes comprendidas entre 1 400 y 2 000 msnm. Actualmente el chirimoyo se encuentra distribuido en casi todos los países con clima subtropical.

En el Perú, crece en las zonas de clima subtropical: ceja de selva, valles interandinos y partes altas de los valles de la costa central hasta 2 000 msnm. Huánuco, Ayacucho, Cajamarca, La Libertad, Ancash, Lima, Piura; y también en Amazonas. (13)

La planta en su composición química tiene alcoholes, acetogeninas, amidas, benzenoides, cherimolina, cherinonaina, esteroides, kauranos, lignanos, lactam amida, purinas, p-quinona; entre sus principales sustancias bioactivas (14)

Usos de la especie en estudio: En la zona de recolección se resumen en cuadro 1

Cuadro 1: Ficha de recolección de la “chirimoya”

Nombre científico	<i>Annona cherimolia</i> Mill.	
Nombre común	Chirimoya	
Lugar de recolección	Distrito de Tingo (1 900 msnm), provincia de Luya. Departamento de Amazonas.	
Hábitat	Se encuentra en quebradas y a orillas del río Utcubamba. El clima es templado	
Usos medicinales en la zona de recolección (especificar forma de uso, preparación y parte usada)	Las hojas se utilizan como medicina, se pueden pasar con manteca de cacao, o manteca de gallina; se coloca en la cabeza u ombligo, de esta manera alivian el dolor; las hojas se recogen al siguiente día secas y el dolor desaparece.	
Tipo de planta	Silvestre x	Cultivada
Fecha de recolección	Mayo de 2 004	

En otras partes del Perú las semillas se usan para la pediculosis; las hojas y pulpa de fruto como antidiarreico; las hojas como antihelmíntico; la corteza de la raíz y las semillas como antidisentérico; las semillas como hemostático (heridas leves, no infectadas); y las hojas también se usan como antiinflamatorias.(13)

En otras partes del mundo se usan como insecticida, “para el pulmón”, como pediculicida, emético, estomáquico, catártico, licor, piscicida, y parasiticida. (15)

1.1.2. *Annona muricata* L. “GUANÁBANA”

Clasificación taxonómica

SUPERDIVISION: SPERMATOPHYTA

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB-CLASE: MAGNOLIIDAE

ORDEN: MAGNOLIALES

FAMILIA: ANNONACEAE

GENERO: *Annona*

ESPECIE: *Annona muricata* L.

La familia y género a los que pertenece esta planta ya fueron comentadas en el acápite anterior.

Sinónimos: *Annona macrocarpa*, *A. bonplandiana*, *A. Cearensis*. (16)

Nombres comunes: Graviola, soursop, guanábana, guanábano, guanavana, guanaba, corossol épineux, huanaba, toge-banreisi, durian benggala, nangka blanda.

Descripción: Árbol o arbusto perennifolio / caducifolio, de 3 a 8 m (hasta 10 m) de altura. Tronco ramificado cerca de su base. Despide mal olor cuando se le tritura. Ramas cilíndricas, arrugadas, ásperas, de color café rojizo y con numerosas lenticelas. Presenta una corteza externa de color castaño más o menos lisa y la interna rosada e insabora. La copa se ramifica desde su base y desarrolla una copa algo cónica.

Hojas de color verde oscuro y brillante en el haz, oblongo-elípticas a oblongo-obovadas, de 6 a 12 cm de largo por 2,5 a 5 cm de ancho, glabras.

Las flores abren al amanecer cuando las anteras están iniciando la expulsión del polen; solitarias a lo largo del tallo, sépalos 3, ovados, de menos de 5 mm de largo; pétalos 6, los 3 exteriores son ovados, libres, gruesos, de 2 a 3 cm de largo, los 3 interiores, delgados y pequeños. Los pétalos externos (color verde al principio y luego cambian a amarillo pálido) caen algunas horas después y los pétalos internos (color amarillento) duran algunos días más.

El fruto es un sincarpio ovoide- elipsoide, a menudo asimétrico (encurvado) debido a deficiencia en la polinización de los carpelos en el lado cóncavo. Mide entre 14 y 40 cm de largo y entre 10 y 20 cm de ancho, llegando a pesar hasta 4 kilos. La cáscara es verde oscuro, cubierto con tubérculos flexibles con aspecto de espinas, brillante y delgada. La pulpa es blanca algodonosa, jugosa, aromática y sabor agrídulce a dulce. Numerosas semillas por fruto, una por carpelo.

Las semillas son obovoides y aplanadas, de 15 a 20 mm de largo con testa oscura y brillante.

Distribución geográfica: La Guanábana es oriunda del Perú y se cultiva en la mayor parte de América tropical, pero generalmente como plantas dispersas en los huertos. También se planta en Hawái, la India, Filipinas y Australia. La zona de producción en el Perú es la Selva central de Chanchamayo (17)

La planta en su composición química tiene alcoholes, alcaloides, acetogeninas, entre sus principales sustancias bioactivas.

Usos de la especie en estudio: En la zona de recolección se resumen en el cuadro 2

Cuadro 2: Ficha de recolección de la "guanábana"

Nombre científico	<i>Annona muricata</i> L	
Nombre común	Guanábana	
Lugar de recolección	Distrito de San Martín de Porres (19 msnm). Provincia de Lima. Departamento de Lima.	
Hábitat	Se encuentra en huertos de antiguos campos de cultivo.	
Usos medicinales en la zona de recolección (especificar forma de uso, preparación y parte usada)	Se utiliza en infusión de pequeña porción de hojas para la diarrea y también para los nervios tomándolo como agua de tiempo.	
Tipo de planta	Silvestre	Cultivada x
Fecha de recolección	Mayo de 2 004	

En los andes peruanos el té de las hojas son usadas para el catarro (inflamación de las membranas mucosas) y las semillas estrujadas son usadas para matar parásitos. En la amazonía peruana la corteza, raíces, y hojas son usadas para diabetes y como un sedativo y un antiespasmódico. Otros usos populares en el Perú son para diarrea, disentería, fiebre, hipertensión, indigestión, piojos, desórdenes hepáticos, sedativo,

tumores (piel), úlceras (internas) y como insecticida. (16)

En otros usos tradicionales destacan los tratamientos de la diarrea o disentería, los cólicos, la hipertensión, el insomnio, la fiebre y las úlceras internas. En las heridas favorece la formación de la tiña o costra. Es un fuerte remedio antibacteriano, sirve contra los parásitos, es citotóxico, febrífugo, vermífugo e insecticida. (18) En México y Trinidad se usan para el tratamiento de dermatofitosis. (16)

1.1.3. *Bidens pilosa* L. “CADILLO”

Clasificación taxonómica

SUPERDIVISION: SPERMATOPHYTA

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB-CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: ASTERALES

FAMILIA: ASTERACEAE

GENERO: *Bidens*

ESPECIE: *Bidens pilosa* L

Esta especie pertenece a la familia Asteraceae, una de las familias más numerosas de angiospermas con más de 1 500 géneros y más de 20 000 especies. Dentro de la flora peruana, la familia Asteraceae es una de las más grandes y se distribuyen en casi todos los ambientes con excepción de la selva baja. (19)

El género *Bidens* tiene cerca de 200 especies, la mayoría de las cuales son hierbas en el aspecto que se considerará como ornamentales. El nombre deriva del latín, *bis* para dos, y *dens* para dientes, refiriendo a las cerdas en las semillas.

Sinónimos: *Bidens adhaerescens*, *B. alausensis*, *B. chilensis*, *B. hirsuta*, *B. leucantha*, *B. montaubani*, *B. reflexa*, *B. scandicina*, *B. sundaica*, *Coreopsis leucantha*, *Kerneria pilosa* (19)

Nombres Comunes: Cadillo, puchusaca, pacunga, ppirca, pirca, sillcan, rosero, rosero cadillo, Picão preto, carrapicho, amor seco, pirca, aceitilla, chilca, cuambu, erva-picão, alfiler, clavelito de monte, romerillo, saltillo, yema de huevo, z'aiguille, jarongan, ketul, pau-pau pasir, spanish needles, bident herisse, herbe d'aiguille, zweizahn, bidente piloso, mozote, beggar's tick (20, 13)

Descripción: Hierba anual, lampiña o algo pubescente de 30 a 100 cm de altura y ramificada. Hojas opuestas a veces alternas en la parte superior pecioladas, 3-partidas, sus segmentos de aovados a lanceolados, de 2 a 8 cm de alto, aserrados, agudos o acuminados. Cabezuelas florales terminales, compuestas por flores tubulares y radiadas de color amarillo intenso y las radicales con sobresalientes pétalos blancos. Aquenio provisto de vilario. Involucro campanulado, como de 8 mm de alto, sus brácteas extercas oblongolineales, por lo común mas cortas que las interiores. Receptáculo plano o casi plano. Tallo erguido, tetrágono; hojas pennado-partidas, 1-3-yugadas, raramente simples; inflorescencia en capítulos discoideos, amarillos, con las lígulas

lineales, tetragonos, lampiñoso con las pestañitas del margen dirigidas hacia arriba. (21)

Distribución geográfica: En el Perú crece como planta invasora en los campos cultivados de la costa peruana Lima, Lambayeque, La Libertad (13), y Amazonas.

Bidens pilosa L. (Asteraceae) es originaria de América del Sur y se encuentra en casi todos los países de regiones tropicales y subtropicales, así como en algunas regiones de Europa. (22)

La planta en su composición química tienen alcaloides, alcano a C4, alanol a C4, alqueninol C5 o más, benzenoide, carbohidrato, coumarina, diterpeno, esteroide, fenilpropanoide, flavona, flavonoide, flavonol, lipido, monoterpene, oxígeno heterocíclico, quinoide, sesquiterpeno, tanino, triterpeno. (23)

Usos de la especie en estudio: En la zona de recolección se resumen en cuadro 3. En la amazonía peruana *Bidens pilosa* L. es usado para aftas bucales, angina, diabetes, desórdenes menstruales, hepatitis, laringitis, lombrices intestinales y para inflamaciones internas y externas. En Piura, la decocción de las raíces es usada para hepatitis alcohólica y lombrices. La tribu cuna mezcla las hojas machacadas con agua para tratar dolores de cabeza. Cerca de Pucallpa, las hojas son ovilladas y aplicadas para dolor de dientes; las hojas también son usadas para dolor de cabeza. En la medicina herbaria peruana *Bidens pilosa* L. es empleada para reducir la inflamación, como diurético, y como soporte y protector hepático. Es comúnmente usada para hepatitis, conjuntivitis, abscesos, infecciones fúngicas (el jugo de las hojas), infecciones urinarias, como ayuda para perder peso, y para estimular el parto. (13, 20)

Es una planta medicinal corroborante, sialagoga, emenagoga, siendo útil todas sus partes para tratar diferentes dolencias. (21) La planta entera es usada en Brasil para infecciones fúngicas y las hojas en la China para la candidiasis. (24)

Cuadro 3: Ficha de recolección “cadillo”

Nombre científico	<i>Bidens pilosa</i> L.	
Nombre común	Cadillo	
Lugar de recolección	Distrito de Tingo (2 000 msnm), provincia de Luya. Departamento de Amazonas.	
Hábitat	Se encuentra dentro de las plantas de cultivo, como maleza.	
Usos medicinales en la zona de recolección (especificar forma de uso, preparación y parte usada)	Se usa para curar heridas. Las hojas y el tallo son buenos para curar heridas. Se hace una masa con las hojas y tallos, y luego se coloca como un emplasto en la herida.	
Tipo de planta	Silvestre x	Cultivada
Fecha de recolección	Mayo de 2004	

1.1.4. *Hypericum laricifolium* “CHINCHANGO”

Clasificación Taxonómica:

SUPERDIVISION: SPERMATOPHYTA

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB-CLASE: DILLENIDAE

ORDEN: THEALES

FAMILIA: CLUSIACEAE (HYPERICACEAE)

GENERO: *Hypericum*

ESPECIE: *Hypericum laricifolium*

Pertenece a la familia Hypericaceae. Esta familia comprende 1 350 especies en 47 géneros encontrados principalmente en regiones tropicales pero también en regiones templadas del norte. La familia Hypericaceae, en ocasiones es incluida en la familia Clusiaceae subfamilia Hypericoideae. (12)

El género *Hypericum* consta de 400 especies, tiene una distribución cosmopolita, pero es más diverso en las regiones templadas y en las montañas tropicales. (25, 26) Para el Perú se citan 14 especies, de las que 6 son consideradas endémicas. (27) Etimológicamente el nombre *Hypericum* viene de las palabras griegas *hyper* (sobre) y *eikon* (imagen). (28)

Sinónimos: *Brathys acerosa* (Kunth) Spach; *Hypericum acerosum* Kunth; *Hypericum laricifolium* var. *acerosum* (Kunth) Wedd.; *Hypericum laricoides* Gleason; *Hypericum platypetalum* Turcz.; *Hypericum racemosum* Turczadhaerescens. (29)

Nombres Comunes: Chinchango, chinchahual, romerillo, matequillcana.

Descripción: Arbustos, árboles pequeños, sufrútices o hierbas, glabros o con pelos simples; tallo con corteza exfoliante; leño fisurado. Glándulas conteniendo hipericina (oscuras) o aceites esenciales (pálidas) presentes en varias partes de la planta. Hojas opuestas, decusadas, sésiles o cortamente pecioladas, más o menos unidas en la base; lámina entera, glándulas presentes. Inflorescencia de una sola flor o numerosas flores. Flores perfectas, amarillas, brillantes, homostilas; sépalos 5, libres, persistentes, con glándulas lineares o puntiformes; pétalos 5, con glándulas lineares o puntiformes; estambres en 5 fascículos no diferenciados formando un anillo continuo de 5–250 estambres, filamentos muy cortos, anteras amarillas o anaranjadas, brillantes; ovario súpero, 3–5 lóculos, numerosos óvulos en placentas parietales; estilos 3–5, libres, estigmas capitados. Cápsula con 3–5 valvas. (25).

Distribución geográfica: En el Perú, lo encontramos en los departamentos de Amazonas, Ancash, Cajamarca, Huánuco, La Libertad, Pasco, Piura, y San Martín; entre los 2 000 y 4 500 msnm. (30)

También esta especie la encontramos en Venezuela, Colombia (31), y Ecuador (25) entre los 2 200 a 4 300 msnm.

En cuanto a la composición química, se reporta que en las partes aéreas de *Hypericum laricifolium* H.B.K. se aislaron dos nuevos productos naturales: hentriacontanil cafeato y nonaonasil cafeato; y también se reporta la presencia de los siguientes compuestos: estigmasterol, β -sitosterol, ácido 3 epi-betulínico, ácido p-hidroxibenzóico,

ácido 3,4-dimetoxibenzoico, ácido cafeico, ácido ferúlico, ácido shikímico, doconasol, quercetina, quercetin 3-O-galactósido, quercetin 3-O-rutósido, quercetin 3-O-ramnósido.(26) También encontramos en la planta entera azúcares, gomas, taninos, glicósidos saponínicos, esteroides, triterpenoides, flavonoides, carotenoides y resinas; y en las flores se encontró hipericina. (32)

Usos de la especie: En la zona de recolección se resume en el cuadro 4. Los pobladores de la zona de Cajamarca (San Miguel), lo usan como materia colorante, para teñir de amarillo el algodón, la lana y para curar una verruga tipo “zute”. (33) En Piura (Huaylingas, Morropón) se usa para curar el Paludismo. (34)

Cuadro 4: ficha de recolección de “chinchango”

Nombre científico	<i>Hypericum laricifolium</i>	
Nombre común	Chinchango	
Lugar de recolección	Distrito de Tingo (3 500 msnm), provincia de Luya. Departamento de Amazonas.	
Hábitat	Se encuentra en cordillera, en las zonas húmedas	
Usos medicinales en la zona de recolección (especificar forma de uso, preparación y parte usada)	Se utiliza para los “nervios”. La preparación se hace hirviendo una porción de la planta y luego en un recipiente adecuado, se realizan baños de asiento.	
Tipo de planta	Silvestre x	Cultivada
Fecha de recolección	Mayo de 2 004	

1.1.5. *Juglans neotropica* Diels “NOGAL”

Clasificación Taxonómica

SUPERDIVISION: SPERMATOPHYTA

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB-CLASE: HAMAMELIDAE

ORDEN: JUGLANDALES

FAMILIA: JUGLANDACEAE

GENERO: *Juglans*

ESPECIE: *Juglans neotropica* Diels

Pertenece a la familia Juglandaceae; pequeña familia de árboles y arbustos caducifolios, monoicos. Comprende 7-8 géneros y alrededor de 60 especies originarias de las regiones subtropicales y templadas del Norte y Sur de América, Asia y Europa. (12)

El género *Juglans*; comprende 15 especies nativas del Sureste de Europa, Asia y América del Norte y del Sur. Algunas especies de este género son: *Juglans regia* L., *Juglans nigra* L., *Juglans cinerea* L., *Juglans ailanthifolia* Carrière (12), y *Juglans neotropica* Diels (nogal Peruano).

Nombres comunes: Nogal, tocte

Descripción: En condiciones favorables normalmente alcanza unos 20 m de altura. Es usual que la mitad del fuste sea limpio. De porte recto. Su copa es irregular, con tendencia a ser proporcionadamente reducida. De ramas gruesas. Las flores masculinas aparecen en las ramas del año anterior, en las axilas de las cicatrices foliares. Son numerosas y dispuestas en espiga. Las flores femeninas se ubican, en grupos de 2 a 4, en el extremo de las ramas. Frutos de drupa redonda, de color pardo a negro, con pedúnculo corto. Al disgregarse el mesocarpio del fruto, queda la nuez o semilla con su cubierta característica. (35)

Distribución geográfica: En el Perú su distribución se observa entre 1 000 y 3 000 msnm. Lo encontramos en los departamentos de Amazonas, Cuzco, Huánuco, Junín, Lima, Loreto, San Martín, Ucayali. (35, 36)

En Colombia se lo encuentra entre alturas de 1 700 a 2 700 msnm. En Ecuador es frecuente hacia la cordillera oriental entre 1 600 y 2 700 msnm. (35)

En cuanto a la composición química; la corteza contiene un tanino elágico. La pulpa del fruto es rica en ácido málico y oxálico, además contiene una naftaquinona: la juglona. Las hojas tienen un aceite esencial y alcaloide: la juglandina, juglona y polifenol. La almendra de la semilla del nogal, contiene entre 60% y 65% de aceites. (35)

Usos de la especie: En la zona de recolección se resume en el cuadro 5

Cuadro 5: ficha de recolección de “nogal”

Nombre científico	<i>Juglans neotropica</i> Diels	
Nombre común	Nogal	
Lugar de recolección	Distrito de Tingo (2 000 msnm), provincia de Luya. Departamento de Amazonas.	
Hábitat	Se encuentra en el valle del río Utcubamba. Valle templado interandino	
Usos medicinales en la zona de recolección (especificar forma de uso, preparación y parte usada)	Se utiliza para la tos, como desinfectante y como colorante. Las hojas se estrujan en leche y sirve para la tos, se toma tres veces al día. El agua del nogal sirve para lavar heridas, es un buen desinfectante. La corteza y las hojas se utilizan para teñir.	
Tipo de planta	Silvestre x	Cultivada
Fecha de recolección	Mayo de 2004	

En el Perú la infusión de hojas de nogal (por su poder astringente) se usa para cortar diarreas, lavar heridas, contra la tos y para teñir de negro el cabello. También debido a dicha propiedad, el jugo de los frutos tiernos mezclado con miel de abeja es usado como cicatrizante en el tratamiento de heridas y llagas (35)

La semilla (nuez) constituye importante alimento humano. Debido a su contenido en tanino, tanto la corteza como las hojas, el mesocarpio de los frutos y aún las raíces, se utilizan para teñir (color nogal, es decir, marrón oscuro) tejidos de algodón y lana.

En Colombia la infusión de las hojas se toma como depurativo de la sangre. La infusión de las raíces se toma para tratar afecciones del hígado. (35)

1.1.6. *Piper* spp. “MATICO”

Clasificación Taxonómica

SUPERDIVISION: SPERMATOPHYTA

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB-CLASE: ARCHICLAMIDEAS

ORDEN: PIPERALES

FAMILIA: PIPERACEAE

GENERO: *Piper*

ESPECIE: *Piper* spp

Pertenece a la familia de las Piperaceae, comprende especies leñosas y herbáceas de las regiones tropicales. (37) Es una familia de 2 000 o más especies, donde la mayoría se agrupa en los géneros *Piper* y *Peperonia*, ambos ampliamente representados en el Perú.

Piper es un género de Piperaceae mayormente constituido por arbustos, y casi exclusivamente tropical. (38) El género *Piper* comprende cerca de 700 especies, entre éstas, desde el punto de vista económico, son importantes aquellas de las que se obtiene la pimienta: *Piper nigrum* (pimienta negra), *P. officinarum*, *Piper longum*, *Piper cubeba*. En particular, la pimienta negra es el fruto completo, mientras que la pimienta blanca se obtiene al quitar el pericarpo. (37) En el Perú el género *Piper* está representado por 210 especies, 2 subespecies, y 33 variedades. (39)

Descripción: En el Perú no existen estudios relacionados con la descripción botánica de la especie en estudio, según la Dra. Graciela Vilcapoma la muestra se acerca bastante a la especie conocida como *Piper caucaense* Yunck; la especie mencionada se encuentra en el Perú en el departamento de Amazonas. (40) Esta planta por influencia de las condiciones ambientales, adopta formas típicas del lugar, por ello las hojas de la zona de recolección, son diferentes a las halladas en otras partes del país.

Distribución Geográfica: Esta planta es oriunda del departamento de Amazonas, entre los 1 500 – 2 000 msnm, en los bosques nublados. (40) Por otro lado a continuación mencionaremos la distribución una especie parecida a la estudiada, *Piper angustifolium* R&P, que se desarrolla entre 0- 3 000 msnm y lo encontramos en los departamentos de Amazonas, Piura, Lambayeque, Cajamarca, San Martín, Loreto, Huánuco, Ucayali, Cerro de Pasco, Lima, Junín, Cuzco, Madre de Dios, Ayacucho. (41)

En cuanto a la composición química, en el género *Piper* se han aislado los siguientes grupos de compuestos: alcaloides, amidas, propenilfenoles, lignanos, neolignanos, terpenos, esteroides, kawapironas, piperolidos, chalconas, hidrochalconas, flavonas, flavonones y otros compuestos (alcanos, alcoholes, ácidos, ésteres, y ciclohexanos oxigenados). (42)

Usos de la especie: En la zona de recolección se resume en el cuadro 6. La especie *Piper angustifolium* R&P; en la era preincaica, se uso como hemostático (ramas jóvenes) y antiinflamatorio (hojas). (13) En Huarica, Cerro de Pasco, las hojas se usan para cicatrizar heridas externas. (41) Además el cocimiento de las hojas (10 g/L), se aplica en la parte afectada, y también se usa para afecciones urinarias. (13)

Cuadro 6: ficha de recolección de “matico”

Nombre científico	<i>Piper spp.</i>	
Nombre común	Matico	
Lugar de recolección	Distrito de Chachapoyas (2 500 msnm), provincia de Chachapoyas. Departamento de Amazonas.	
Hábitat	Montañas.	
Usos medicinales en la zona de recolección (especificar forma de uso, preparación y parte usada)	Las hojas se usan para limpiar la tos catarral, para la inflamación del hígado. Se toman en forma de infusiones, que se preparan hirviendo las hojas en agua por uno o dos minutos.	
Tipo de planta	Silvestre x	Cultivada
Fecha de recolección	Mayo de 2 004	

1.1.7. *Plantago major* L. “LLANTÉN”

Clasificación Taxonómica:

SUPERDIVISION: SPERMATOPHYTA

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB-CLASE: ASTERIDAE

ORDEN: PLANTAGINALES

FAMILIA: PLANTAGINACEAE

GENERO: *Plantago*

ESPECIE: *Plantago major* L.

El género *Plantago* pertenece a la familia de las plantagináceas, constituida por unas 270 especies que se agrupan en tres géneros, de los cuales el *Plantago*, al incluir el 98% de éstas, es el más importante. Son plantas generalmente herbáceas, aunque algunas especies pueden estar lignificadas en la base. Existen especies anuales y perennes. (43)

Nombres comunes: Llantai, llantén macho; llantén mayor, tanchagem (portugués); yantín (shipibo-conibo) (44)

Descripción: *Plantago major* L. es una planta perenne que pertenece a la familia Plantaginaceae. Puede medir cerca de 15 cm de alto, pero el tamaño varía bastante a merced de los hábitats de crecimiento. Las hojas crecen en florones, y son ovaladas o elíptica con nervadura paralela (5–9). Las hojas son glabras y tienen un margen entero o irregularmente dentado. Las flores son pequeñas, verde tirando a marrón bastante

ramificadas. (45)

Distribución geográfica: *Plantago major* L. es nativa de Eurasia y distribuida en zonas tropicales y subtropicales del mundo. En el Perú se encuentra tanto en los departamentos de la costa, como en los de sierra y selva. (44) Entre ellas el departamento de Amazonas.

En cuanto a la composición química; *Plantago major* L. contiene compuestos biológicamente activos como polisacáridos, lípidos, derivadas de ácido cafeico, flavonoides, glicosidos iridoides y terpenoides. Los alcaloides y algunos ácidos orgánicos también han sido detectados. (45)

Usos de la especie: En la zona de recolección se resume en el cuadro 7. En el Perú se usa como antiséptico bucal aplicando en forma de buchadas la infusión de las hojas, como antiséptico dérmico aplicando el cocimiento de las hojas sobre las heridas en forma de lavados, para la dermatitis se aplica lavados con el conocimiento de las hojas. Se usa también para la gonorrea en mujeres, para la inflamación dérmica, leishmaniasis, asma, bronquitis, cólicos renales, estreñimiento, hepatitis, ictericia, picaduras de insectos, tos, vómito, y como astringente, hemostático, expectorante, y vulnerario. (44)

Estudios recientes de etnofarmacología muestran que *Plantago major* es usado en muchas partes de mundo en el tratamiento de numerosas enfermedades como: enfermedades de la piel (abscesos, acné, como anti-inflamatorio, picaduras de abeja y avispa así como irritación por ortiga, magulladuras, quemaduras, leishmaniasis cutánea, cortaduras, dermatitis, desinfectante de heridas, emoliente, exantema, hemostático en heridas, veneno de hiedra, dermatitis, prurito, formación de pus en impétigo, rosácea, cicatrizante de heridas), las enfermedades infecciosas, problemas concernientes a los órganos digestivos, órganos respiratorios, reproducción, la circulación, en contra de tumores, para el alivio al dolor y para reducir la fiebre. (45)

Cuadro 7: ficha de recolección de “Llantén”

Nombre científico	<i>Plantago major</i> L.	
Nombre común	Llantén	
Lugar de recolección	Distrito de Chachapoyas (2 500 msnm), provincia de Chachapoyas. Departamento de Amazonas.	
Hábitat	Crece en lugares húmedos.	
Usos medicinales en la zona de recolección(especificar forma de uso, preparación y parte usada)	Se usa como desinflamante, se sancochan las hojas y se pone en las heridas o partes inflamadas. También se puede tomar para desinflamar los riñones y el hígado, se puede tomar en ayunas, todos los días por el espacio de 30 días.	
Tipo de planta	Silvestre x	Cultivada
Fecha de recolección	Mayo de 2 004	

1.1.8. *Psidium guajava* “GUAYABA”

Clasificación Taxonómica:

SUPERDIVISION: SPERMATOPHYTA

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB-CLASE: ROSIDAE

ORDEN: MYRTALES

FAMILIA: MYRTACEAE

GENERO: *Psidium*

ESPECIE: *Psidium guajava* L.

Pertenece a la familia Myrtaceae, familia muy extensa formada por gran número de plantas leñosas que van desde matas hasta grandes árboles. Familia compuesta por alrededor de 120 géneros con cerca de 3 000 especies originarias de zonas tropicales y subtropicales de Australia principalmente, Asia y América. La familia tiene gran importancia económica al encontrarse en ella plantas de gran interés y utilidad por sus frutos comestibles, obtención de especias, aceites, maderas, etc. Igualmente numerosas especies tienen gran importancia como plantas ornamentales. Tratamos especies de los géneros *Agonis*, *Angophora*, *Callistemon*, *Eucalyptus*, *Eugenia*, *Feijoa*, *Lophomyrtus*, *Luma*, *Melaleuca*, *Metrosideros*, *Myrciaria*, *Psidium*, *Syncarpia*, *Syzygium*, *Tristania*. (12)

El género *Psidium* comprende; árboles y arbustos siempreverdes de hojas opuestas, simples, enteras. Flores solitarias o en cimas axilares o terminales paucifloras. Cáliz urceolado con el tubo prolongado por encima del ovario, con 4-5 lóbulos, persistente. Corola con 4-5 pétalos blancos; androceo con numerosos estambres dispuestos en varias series. Fruto en baya globosa o piriforme, a veces comestible. Comprende unas 100 especies nativas de América tropical. (12)

Nombres comunes: Guayaba, guayabo (Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú, Venezuela); chuará-cacoto (Bolivia); goiaba, goiabeira, araca goiaba (Brasil); sahuinto (Perú: Quechua) (4), guayabillo, kima (cocama), kimanski, llómy (amuesha), matos, sacha, sailla, guayavo, huayabo. (13)

Descripción: Arbol pequeño de hasta 5 m de altura; tallos ramificados; hojas opuestas, sencillas, coriáceas, enteras, ovaladas; flores blancas, pequeñas, dispuestas en las axilas de las hojas; el fruto es una baya comestible que toma un color amarillo cuando madura, de unos 5 cm de diámetro, globoso, liso, con una pulpa rosada y numerosas semillas.(4)

Distribución geográfica: En el Perú, crece en climas tropicales y subtropicales: San Martín, Loreto, Huánuco, Junín, Lima, Cuzco, (13) y Amazonas.

Actualmente se extiende desde México y Centroamérica, hasta Sudamérica, en específico Brasil y Perú, en Las Antillas y el sur de Florida. Su área ecológica se encuentra en la franja paralela al Ecuador, con límites que no van más allá de los 30° de cada hemisferio. Siglos atrás fue llevada a África, Asia y la India y actualmente se le encuentra en más de 50 países con clima tropical. En Hawai, la guayaba crece en franjas desérticas con precipitaciones menores a 250 mm. (46)

En cuanto a la composición química; en general en el género *Psidium* se ha descrito la presencia de saponinas, sapogeninas, elagitaninos y triterpenos. (4) Entre los compuestos químicos de la planta se reportan: vitamina C, aceites esenciales en las hojas (cariofileno, nerolidiol, bisabolenol, aromadendreno, p-selineno, α -pineno y 1,8-cineol), carbohidratos, taninos, flavonoides, triterpenoides, esteroides y alcaloides. (47, 48)

Usos de la especie: En la zona de recolección se resume en el cuadro 8

Cuadro 8: ficha de recolección de “guayaba”

Nombre científico	<i>Psidium guajava</i> L.	
Nombre común	Guayaba	
Lugar de recolección	Distrito de Tingo (2 000 msnm), provincia de Luya. Departamento de Amazonas.	
Hábitat	Valle del río Utcubamba, clima seco y húmedo.	
Usos medicinales en la zona de recolección (especificar forma de uso, preparación y parte usada)	Las hojas hervidas por dos minutos son buenas para los “cólicos”. También se le usa para limpiar los “bichos” del estómago. El fruto se prepara en conservas y en agua de tiempo.	
Tipo de planta	Silvestre x	Cultivada
Fecha de recolección	Mayo de 2 004	

En el Perú; las hojas y la raíz se usan como astringentes, la decocción de la corteza para el dolor de estómago, el cocimiento de hojas para lavar piernas y desinflamarlas, el cocimiento de frutos y hojas para disenterías y diarreas, además las semillas, se muelen y se hace una pasta con agua que se aplica en barros y granos del rostro. (4,13)

En otros países del mundo se usa en la medicina herbolaria para combatir diferentes enfermedades como febrífuga, antiseptora, hemostático, antiséptico, astringente, antidisentérico, cicatrizante, para tratamiento de la diabetes, digestivo y anticatarral, para los cólicos, diarreas, inflamación gastrointestinal aguda y como diurético, entre otros usos. (46, 47, 48, 49)

1.1.9. *Schinus molle* “MOLLE”

Clasificación Taxonómica:

SUPERDIVISION: SPERMATOPHYTA

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB-CLASE: ROSIDAE

ORDEN: SAPINDALES

FAMILIA: ANACARDIACEAE

GENERO: *Schinus*

ESPECIE: *Schinus molle* L.

Pertenece a la familia Anacardiaceae; la cual es una familia de árboles y arbustos normalmente de hojas alternas y con frecuencia pinnado-compuestas, aunque también se dan las hojas simples. Incluye unos 60 géneros y 600 especies de distribución principalmente tropical y subtropical, con algunos representantes en las zonas templadas. Se cultivan especies de los géneros *Anacardium*, *Astronium*, *Cotinus*, *Harpephyllum*, *Lithrea*, *Mangifera*, *Pistacia*, *Rhus*, *Schinus* y *Spondias*. (12)

El género *Schinus* comprende Árboles y arbustos siempreverdes, con unas 30 especies nativas de Suramérica. (12) Entre ellas *Schinus molle* L, *Schinus terebinthifolius* Raddi, *Schinus lentiscifolius*, *Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera.

Sinónimos: *Schinus angustifolius*, *S. areira*, *S. bituminosus*, *S. huigan*, *S. occidentalis*, *S. antiarthriticus*, *S. mellisti*, *Sarcotheca bahiensis*. (50)

Nombres comunes: Molle (Castellano), mulli (Quechua), cullash, falsa pimienta, árbol de la vida, agua ribay (Argentina), anacahuite (México), huigan, huiñan, pepertree (Inglés), balsamo sanalotodo, pimentera, muelle, lentisco, turbinto (Perú). (13, 51)

Descripción: Especie que alcanza de 6 a 8 m. de altura, pero en condiciones favorables llega hasta 15 m. La corteza es áspera, con protuberancias redondeadas y grietas de unos 2 a 3 mm, con tendencia a desprenderse en placas rígidas.

Las hojas son alternas, compuestas, con 7 a 25 pares de folíolos, de peciolo largo y aplanado. Los folíolos son imparipinnados, alternos u opuestos, sésiles, lanceolados, de color verde ceniciento a verde claro en ambas caras, de 3 a 6 cm de largo y 4 a 8 mm de ancho. Cuando se estrujan emiten un olor característico.

La especie es dioica, sus flores son pequeñas, numerosas, de color blanco amarillento, dispuestas en panículas cónicas que generalmente miden entre 8 y 15 cm de largo. Los frutos son drupa redondeada con epicarpio lustroso de color coral a rojo-púrpura cuando esta madura; diámetro de 2 a 5 mm, la pulpa es mucilaginoso y dulce, conteniendo un líquido oleaginoso muy aromático. Las semillas son redondas, arrugadas cuando secas, de color marrón a negro, de sabor parecido a la pimienta, por lo cual al molle también se le conoce como falsa pimienta. Tiene una semilla por cada fruto, con diámetro de 2 a 4 mm. (51)

Distribución geográfica: El molle se encuentra prácticamente en todo el ande del Perú, pero con mayor frecuencia entre los 100 a 3 200 msnm de la vertiente occidental, así como en los valles y las laderas interandinas. Quebradas cálidas y abrigadas. Valle Mantaro 2200 msnm. Lima, río Supe, Huánuco. (13)

Es una especie ampliamente distribuida en las montañas de Sudamérica y América Central de donde probablemente es nativa, se cultiva en las tierras tropicales y en áreas subtropicales a través del mundo como ornamental.(51)

En cuanto a la composición química se reporta la presencia de los siguientes tipos químicos: aceites esenciales, alcaloides, alcanol, bencenoide, carbohidratos, esteroides, fenilpropanoide, flavonoides, flavonol, lípidos, monoterpenos, proteínas, sesquiterpenos, taninos, y terpenoides. (52)

Usos de la especie: En la zona de recolección se resume en el cuadro 9

Cuadro 9: ficha de recolección de “molle”

Nombre científico	<i>Schinus molle</i> L.	
Nombre común	Molle	
Lugar de recolección	Distrito de Toraya (2800 msnm), provincia de Aymaraes. Departamento de Apurímac.	
Hábitat	Pampas y laderas, de clima seco cálido, la temperatura alcanza hasta los 25° C.	
Usos medicinales en la zona de recolección (especificar forma de uso, preparación y parte usada)	Se usa para el reumatismo haciendo aplicaciones de las hojas pasadas por agua hirviendo y envolviendo con una tela en la zona afectada, se deja por toda una noche.	
Tipo de planta	Silvestre x	Cultivada
Fecha de recolección	Mayo de 2004	

En el Perú, la savia es usada como un laxante suave y un diurético, y la planta entera es usada externamente para fracturas y como un antiséptico tópico. La oleorresina es usada externamente como un cicatrizante, hemostático, y para el dolor de dientes, y es tomado internamente para reumatismo y como purgante. (50) Las hojas y frutos son usados para afecciones respiratorias (bronquitis, tos) (13), el zumo de hojas disueltas en leche (colirio) es usado para la conjuntivitis. (53)

Además en el Perú se usa para constipación, depurativo, fiebre, hepatitis, heridas, insuficiencia urinaria, limpieza de dientes, parásitos, reumatismo, tumores, y verrugas. (13, 50, 53)

A lo largo de Sudamérica y América Central, el molle es reportado ser un astringente, antibacteriano, diurético, estimulante digestivo, tónico, antiviral, y cicatrizante de heridas. (50)

1.1.10. *Spartium junceum* “RETAMA”

Clasificación Taxonómica:

SUPERDIVISION: SPERMATOPHYTA

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB-CLASE: ROSIDAE

ORDEN: FABALES

FAMILIA: FABACEAE

GENERO: *Spartium*

ESPECIE: *Spartium junceum* L.

Pertenece a la familia Fabaceae; que son hierbas, algunas veces trepadoras por zarcillos, o menos a menudo arbustos, árboles, lianas leñosas, rara vez espinosos. La familia está compuesta de 440 géneros, 12 000 especies. Los géneros más numerosos son: Astragalus (2 000), Indigofera (500), Crotalaria (500), Trifolium (300), Dalea (160),

Phaseolus (200), Lupinus (200). (54)

El Género *Spartium* tiene una sola especie *Spartium junceum* L.

Nombres comunes: Gayomba (España), giesta (Portugal, Brasil), ginesta (España), ginestera (España), retama (Perú, Uruguay), retama Amarilla (Uruguay), retama de olor (España), spanish broom (USA), weaver's broom (USA)

Descripción: Arbusto perenne, siempre verde de dos a tres metros de altura. Tiene raíz axomorfa y numerosas radículas. Los tallos erectos, ramificados, verdes brillantes son redondeados (como junco) y principalmente sin hojas. Las ramas son cilíndricas, estriadas, flexibles, con médula. Las hojas son sencillas, alternas, lineares, ovales, caducas, azul verdosas y escasas. Las flores fragantes son amarillas brillantes, y tienen forma de guisante, creciendo en racimos terminales con el cáliz pentadentado, floreciendo en el tiempo de primavera. El fruto es una legumbre plana, negruzca, que contiene de 10 a 16 semillas ovoidales oscuras cada una. (55, 56)

Distribución geográfica: Lo encontramos en orillas de los ríos, rocas inclinadas, entre los 1500 a 4000 msnm; en los departamentos de Ancash, Apurímac, Cajamarca, Cuzco, Huánuco, Junín, Lima. (57, 58) También lo encontramos en el departamento de Amazonas.

La “retama” es nativa de la Europa mediterránea, ahora está ampliamente cultivada y naturalizada en diferentes partes del mundo con clima mediterráneo. (59)

En cuanto a la composición química la “retama” posee entre otros: alcaloides (citisina y esparteína principalmente, junto con genisteína e isoesparteína), glucósidos (escoparina), flavonoides (quercetina), ácidos (cafeico, linoleico, oleico, caprílico, palmítico), taninos y oxalatos. (60, 61)

Usos de la especie: En la zona de recolección se resume en el cuadro 10. Se usa como diurético, para el edema, emético, laxativo, narcótico, perfume, veneno, purgativo. (60). Las flores de *Spartium junceum* L. (Fabaceae) son usadas para el tratamiento de úlceras pépticas en la medicina folklórica turca. (61)

Cuadro 10: ficha de recolección de “retama”

Nombre científico	<i>Spartium junceum</i> L.	
Nombre común	Retama	
Lugar de recolección	Distrito de Chachapoyas (2 500 msnm), provincia de Chachapoyas. Departamento de Amazonas.	
Hábitat	Lugares poco húmedos, clima seco.	
Usos medicinales en la zona de recolección (especificar forma de uso, preparación y parte usada)	Se usa para la fiebre, en caso de Tifoidea. Se estrujan, cuando está hirviendo el agua se suelta por un minuto y medio, se toma tres veces al día.	
Tipo de planta	Silvestre x	Cultivada
Fecha de recolección	Mayo de 2 004	

1.2. ANTECEDENTES

En el año 2 003 Navarro y colaboradores demostraron la existencia de actividad antifúngica del extracto metanólico de las semillas de *Annona cherimolia* (Chirimoya) contra todos los hongos evaluados, con valores de CMI de 4 mg/mL para *Trichophyton mentagrophytes*, *Aspergillus niger* y *Candida albicans*; y 8 mg/mL para *T. rubrum*. (7)

Por otro lado los nativos de la amazonía utilizan la corteza de la *Annona muricata* (Guanábana) por sus propiedades antifúngicas. El principal constituyente químico son las acetogeninas. (16)

En la corteza de *Annona salzmanii* D.C.; se encontraron 4 alcaloides bencilisoquinolinas con actividad antifúngica: reticulina, anonaina, isoboldina y laurelliptina. (62)

Algunas tribus amazónicas usan las hojas de *Bidens pilosa* como antimicótico, para lo cual trituran 20 hojas frescas y luego los aplican en forma de cataplasma sobre la zona afectada (63)

Se reportó que del extracto de éter de petróleo de las partes aéreas de *Hypericum calycinum* se aisló un derivado de floroglucinol que posee actividad antifúngica contra *Cladosporium cucumericum*. (64) Las xantonas aisladas de la raíz de *Hypericum roeperanum* exhiben actividad antifúngica contra *Candida albicans*. (65) La hiperbrasilona y xantonas aisladas del extracto de diclorometano de la corteza y raíz de *Hypericum brasiliense* mostraron actividad contra *Cladosporium cucumericum*. (66) También se ha reportado que los extractos clorofórmico y metanólico de las hojas y cortezas de *Hypericum patulum* e *Hypericum mysorense* mostraron un efecto antifúngico comparable a la griseofulvina. (67)

Se ha reportado que el extracto metanólico de la corteza *Juglans neotropica* Diels mostró actividad contra *Candida albicans*. (68) Por otro lado el extracto de la corteza de *Juglans cinerea* mostró actividad contra una amplia variedad de levaduras y dermatofitos tales como *Candida albicans*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum gypseum*, y *Aspergillus fumigatus*. (69)

Las investigaciones con las hojas de *Piper crassinervium* Kunth del Brasil (también existe en el Perú), dieron como resultado: 3 hidroquinonas preniladas (1, 2, y 3) reportadas por primera vez en este género, y 2 flavononas conocidas naringenina (4) y sakuranetina (5) Los compuestos 1 y 5 fueron los antifúngicos más potentes con actividades comparables a la nistatina y miconazol (70); otros reportes demostraron la actividad anticandida de *Piper lanceaefolium* HBK por el método de Difusión en Disco. (68) En el año 1 996 se analizó el aceite esencial de *Piper angustifolium* Lam. por técnicas de cromatografía de gas- espectrofotómetro de masas (GC/MS), canfor y canfeno fueron los principales constituyentes. Este aceite mostró actividad bacteriostática contra *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* y fungistática contra *Trichophyton mentagrophytes*, *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus flavus* y

Aspergillus fumigatus. (71)

Otros reportes demuestran la actividad antifúngica del extracto etanólico de semillas de *Piper guineense* y algunas de sus fracciones obtenidas por columna cromatográfica (72); además se han aislado numerosas amidas con actividad antifúngica de semillas y hojas de *Piper tuberculatum*, hojas de *Piper arboreum* (73), *Piper hispidum*, y *Piper tuberculatum* (74, 75).

En el fraccionamiento bioactivo guiado de un extracto metanólico de hojas de *Piper lanceaefolium* se aislaron 4 derivados nuevos de ácido benzoico (1-4) seguido de ácido tabogánico, pinocembrim, y pinocembrim chalcona. Ácido lanceafólico metilester y pinocembrim chalcona mostraron actividad contra *Candida albicans*, con una CMI= 100 µg/mL en ambos casos. (76); así mismo el fraccionamiento bioactivo guiado del extracto diclorometánico de hojas de *Piper fulvescens*, usando un método bioautográfico cubierto de agar, permitió el aislamiento de 3 neolignanitos antifúngicos identificados como conocarpan, eupomatenoide 5 y eupomatenoide 6. El primero mostró la más amplia actividad, mientras el eupomatenoide 6 fue el más activo contra dermatofitos. (77)

El extracto de las hojas de *Psidium guajava*, mostró buena actividad contra *Candida* (*Candida albicans* CMI = 125 µg/mL, *C. krusei* CMI = 15,6 µg/mL, *C. parasilopsis* CMI = 62,5 µg/mL, *C. tropicalis* CMI = 15,6 µg/mL). La guayaba tiene una gran variedad de principios activos contra microorganismos que incluyen: aceites esenciales, flavonoides y taninos. (78)

Se ha reportado la actividad contra *Candida krusei* y *Candida tropicalis* del extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* (78); también se demostró mediante un estudio in vitro, según el método de difusión en discos en agar Sabouraud, el efecto antifúngico de una crema elaborada con las hojas de *Plantago major*, está resultó muy efectiva frente a *Candida albicans*, en menor grado, frente al *Trichophyton rubrum* y no se observó actividad antimicótica in vitro frente al *Microsporum canis*. (79)

En pruebas de laboratorio, el aceite esencial de *Schinus molle* L. (extractos de hojas y corteza) ha demostrado potentes propiedades antimicrobianas. El molle ha mostrado buena a muy fuerte acción antifúngica in-vitro contra numerosos hongos, como *Candida*. Un grupo de investigación indica que la acción antifúngica del aceite esencial fue más efectivo que *Multifungin*®, una droga antifúngica. (50)

LAS PLANTAS COMO FUENTES DE ANTIFÚNGICOS

Durante el curso de la evolución, algunos hongos han empezado a interactuar activamente con las plantas vivas. La mayoría de estas interacciones son ventajosas para las plantas, así, para su crecimiento y desarrollo, como en el caso de micorrizas y endofitos. *Una pequeña minoría de especies fúngicas han desarrollado más y han roto el fino balance de beneficio mutuo para empezar a ser patógenos de las plantas.* Sin embargo en la mayoría de poblaciones de las plantas hay individuos que son resistentes a la infección fúngica.

La interacción entre plantas y sus patógenos es compleja y podría ser muy específica para una combinación dada de la planta y los hongos. Las estrategias de defensa de las plantas contra sus patógenos son múltiples e incluyen el uso de químicos antifúngicos.

Cuando una espora fúngica entra en contacto con la superficie de la planta, el microclima (temperatura, humedad, condiciones de luz, etc.) tiene que ser correcto antes de germinar. Luego rompe varias líneas de defensa armadas por las plantas antes de alcanzar una célula viva. Estos incluyen: *barreras mecánicas*, tales como una cutícula gruesa; y *barreras químicas*, tales como compuestos de exudado, los cuales inhiben la germinación de la espora y la elongación del tubo germinativo. Estos compuestos son parte del arsenal de compuestos antifúngicos constitutivos (o preformados) producidos por plantas llamados también metabolitos preinfeccionales, inhibidoras o fitoanticipinas. Si todas estas armas de las plantas no son suficientes para detener la germinación de la espora fúngica y penetra la hifa a través de la epidermis, la planta usualmente responde por bloqueo o demoramiento del avance del invasor. Especies reactivas de oxígeno son frecuentemente señales de peligro dentro de la célula o para las células vecinas, disparando varias reacciones. Estas incluyen:

- Reforzamiento estructural de la pared celular.
- La respuesta hipersensitiva.
- Desarrollo de resistencia sistémica adquirida.
- La acumulación de nuevos antifúngicos químicos los cuales son llamados fitoalexinas.

"El término FITOALEXINA es usualmente restrictivo a compuestos antibióticos los cuales requieren expresión *de novo* de las enzimas involucradas en su ruta biosintética"(Anderson 1991). Esta es una vía muy económica para contraatacar patógenos, porque los recursos energéticos y de carbón son desviados a la síntesis de fitoalexinas sólo en un periodo temprano de la infección, y sólo en su sitio. Plantas no puestas a prueba pueden usar estos recursos para procesos más básicos de vida tales como desarrollo de flores y producción de semillas, o acumulación de carbohidratos de reserva en su órgano de almacenamiento.

Algunas plantas no producen fitoalexinas cuando son retados por patógenos, pero liberan toxinas que son normalmente almacenadas como glicósidos menos tóxicos en las vacuolas de sus células, ej. glicósidos fenólicos e iridioides, glucosinolatos y saponinas. Si la integridad de las células es rota cuando es penetrada por la hifa fúngica, el glicósido empieza a tomar contacto con enzimas hidrolíticas presentes en otros compartimientos de la célula, liberando la aglicona tóxica. Aunque esta aglicona liberada después del ataque fúngico no está presente en la planta intacta y es producido como nuevo, ello es estrictamente hablando no fitoalexina, porque las enzimas involucradas (glucosidasas) están ya presentes en la planta sana y no son formadas *de novo*.

Las fitoalexinas son definidas por la dinámica de la biosíntesis y las funciones, no por la clase de estructura química a la que ellos pertenecen, o la vía biosintética a través de las cuales ellos son formados.

Las fitoalexinas han sido encontradas en

- Gimnospermas
- Angiosperma (monocotyledonae y dicotyledonae)

Todas las clases estructurales mayores tales como fenólicos, terpenoides y alcaloides, están representados, y las estructuras son frecuentemente únicas en el ámbito de la familia, por ej. la mayoría de fitoalexinas producidas por miembros de la familia Leguminosae son isoflavonoides mientras que indoles conteniendo azufre son encontrados únicamente en las crucíferas. Sin embargo, en algunas otras familias, una variedad de fitoalexinas correspondientes a diferentes grupos de compuestos son producidos, ej. en *Graminae*, *Compositae* y *Moraceae*. (80)

El término fitoanticipina (acuñado por J.W. Mansfield) tiene la siguiente definición "*son compuestos antimicrobianos de bajo peso molecular que están presentes en las plantas antes de ser injuriadas por microorganismos o son producidos después de la infección únicamente de compuestos preexistentes*" (81). La distribución de inhibidores preformados dentro de las plantas es frecuentemente tejido específica, y hay una tendencia para estos compuestos a concentrarse en las capas celulares externas de los órganos de las plantas. En general, los compuestos antifúngicos preformados son comúnmente secuestrados en vacuolas o organelas en plantas saludables. La naturaleza y nivel de inhibidores preformados para los cuales un potencial patógeno es expuesto, variará dependiendo de factores tales como genotipo del huésped, edad y condiciones ambientales. (82)

Un gran número de compuestos constitutivos de plantas han sido reportados con actividad antifúngica. Ejemplos bien conocidos incluyen: *fenoles y glicósidos fenólicos*; *lactonas insaturadas*, *compuestos de azufre*, *saponinas*, *glicósidos cianogenéticos*, *glucosinolatos*, *resorcinoles 5-alquilados y dienos*.

1.3. AGENTES ANTIFÚNGICOS

Los agentes antifúngicos tienen una amplia aplicación en la medicina humana, medicina veterinaria y agricultura. Seis clases mayores de compuestos antifúngicos sistémicos están en uso actualmente: los polienos antibióticos, los derivados de azoles, las alilaminas y tiocarbamatos, las morfollinas, los análogos de nucleósido y las equinocandinas. (11, 83)

Polienos antibióticos: Los polienos se unen a los esteroides de membrana (fundamentalmente ergosterol) y esta unión genera la formación de canales acuosos por los que la célula fúngica pierde iones, univalentes y divalentes, y moléculas carbonadas. (84, 85) Está representado por la Anfotericina B, sola y anfotericina B formulaciones lipídicas, y la nistatina. (86)

Azoles y derivados: Inhiben la síntesis de ergosterol, por la inhibición de la enzima citocromo P450 14- α demetilasa y de esta forma se acumulan esteroides metilados que resultan tóxicos para las células, llevando a perturbación de la membrana celular, fungistasis. (84, 85, 86) Está representado por fluconazol, ketoconazol, voriconazol, ravuconazol, itraconazol, posaconazol. (85, 83, 86)

Alilaminas y tiocarbamatos: Las alilaminas bloquean la síntesis de ergosterol, por

la inhibición de la escualeno epoxidasa, permitiendo la acumulación de escualeno (que es tóxico para las células). (84, 86) Está representado por la terbinafina. (85). La naftifina y el tolnaftato, son tiocarbamatos de uso tópico. (11)

Morfolinas: Inhibe la esterol reductasa e isomerasas, y está representado por la amorolfina. (11)

Análogos de Nucleósido: Representada por la fluoropirimidina flucitosina (5-fluorocitosina), la cual es transportada hacia el hongo susceptible por una citosina permeasa y luego sufre desaminación a su forma activa (5-fluorouracilo) por la citosina deaminasa, la cual inhibe la síntesis macrocelular de ADN y ARN. (84, 86, 87)

Equinocandinas: Inhiben la síntesis de β -1,3-glucan (el mayor polímero estructural de la pared celular), permitiendo la susceptibilidad de células fúngicas y lisis osmótica. (84, 86, 88). Están representados por caspofungina, micafungin y anidulafungin. (89, 88)

Los agentes antifúngicos actualmente disponibles, son: tóxicos, interaccionan droga-droga, tienen problemas farmacocinéticos, y desarrollan resistencia. (90)

En términos generales, los principales mecanismos de resistencia (84, 85, 91) son:

- **Cambios en la interacción fármaco-diana** (aumento del número de copias de la diana o modificaciones debido a mutaciones). Por ejemplo la modificación del gen ERG-11 a nivel molecular (mutación genética, conversión y sobreexpresión). (86)

- **Incapacidad del fármaco para alcanzar la diana dentro de la célula**, que puede ser debida a la existencia de barreras de permeabilidad o a sistemas de bombeo activo del compuesto al exterior. Ejemplo la bomba CaMDR1 en *Candida albicans*, cuyo sustrato es el fluconazol (92)

- **Alteración en la biosíntesis de esteroides**. Ejemplo, por pérdida de función de la mutación Δ -5,6-desaturasa, y está relacionada con mutaciones en el gen ERG3, se presenta en *Candida albicans* resistente a fluconazol y puede haber resistencia cruzada a anfotericina B. (86)

- **Reducción en la concentración intracelular de enzimas blancos**. Ejemplo, por citocromo P450 14- α -demetilasa mutada, relacionada con puntos de mutación del gen ERG11; se observa en la *Candida albicans* resistente a fluconazol. (86)

Adicionalmente a los compuestos explicados, a continuación revisaremos brevemente los *compuestos antifúngicos emergentes*, que actúan en los siguientes niveles:

Pared Celular Fúngica

Síntesis de Glucan: Inhibido por lipopéptidos equinocandinas y papulocandinas. (93, 90, 11)

Síntesis de Citin: Polioxinas y nikkomycinas. (93, 90, 94, 89, 11, 95)

Síntesis de Manan: Pradimicina (93, 89, 11), y benanomycinas. (89, 11)

Síntesis de Glucoproteínas Fúngicas: La reacción, catalizada por Dol-P-Man: proteína O-D-manosiltransferasa es propuesta como un nuevo blanco. (96)

Membrana Citoplasmática fúngica

Síntesis de Esfingolípidos: Aunque muchos pasos en las rutas biosintéticas de esfingolípidos en humanos y hongos son similares, hay enzimas claves que son únicas en los hongos. (97): inhibidores de la Serina palmitoiltransferasa: (Esfingofunginas, viridiofunginas, lipoxamicina) (97), inhibidores de la ceramida sintasa (Fumonisin B1 y austrolofungina) (97), inhibidores de la inositol fosfoceramida sintasa (Aureobasidinas, khafrefungina y rustimicina) (97, 98, 95), e inhibidores de la elongación de ácidos grasos (Minimoidin) (97).

Síntesis de Fosfolípidos: Se investiga la síntesis de fosfatidilserina, la cuál es sintetizada de CDP-diacilglicerol en hongos. (99)

Síntesis de Esteroles: Están representados por los antifúngicos clásicos (alilaminas, tiocarbamatos, azoles, morfolinas) (99)

Bombas protónicas: Está representada por folimicinas y bafilomicinas. (91)

Síntesis de ADN y proteínas

Factores de Elongación : Las sordarinas inhiben la síntesis de proteínas por bloqueo de la función del factor de elongación 2 (FE2). (83, 100, 97, 95)

Topoisomerasas : Los compuestos que inhiben el ADN y las topoisomerasas son la pentamidina y bisbenzimidazoles. (11)

Nucleasas: Los compuestos aromáticos dicatiónicos son derivados de pentamidina. (99)

N-Mirosil Transferasa: Entre sus representantes tenemos a una nueva amida dipeptida imidazol sustituida y un nuevo inhibidor no peptídico biológicamente activo. (99)

Vías de Señales de Transducción: Cardenas et al. se enfocó en el mecanismo de acción de cinco productos naturales, ciclosporina A(CsA), FK506, rapamicina, wortmannina y geldanamicina en señalización; los cuales tienen como blanco a las señales de transducción mediada por calcineurina. (101)

Metabolismo intermedio: Aquí tenemos inhibidores de la síntesis de aminoácidos, como la cispentadina. (11, 95)

Inhibición de Microtubulos: Está representado por el benomil. (11)

Inhibidores del Transporte de Electrones Mitocondriales: UK2A, UK3A (97, 95)

Estos compuestos son nuevas guías para modificaciones sintéticas que podrían condicionar el descubrimiento de futuras drogas antifúngicas. (11, 97) Muchos de los nuevos compuestos se obtienen de investigaciones como nuestra tesis.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. MATERIALES Y EQUIPOS

Materiales

- Pipetas
- Balones
- Sacabocados
- Placas Petri
- Tubos de Prueba
- Micropipetas
- Tips de 100 µL
- Viales

Equipos

- Autoclave
- Balanza Analítica sensibilidad 0,1 mg Denver Modelo XP-300

- Equipo de Reflujo
- Estufa Memmert
- Molino de cuchillas WHILLEY MILL
- Refrigeradora
- Rotavapor

2.2. MATERIAL BIOLÓGICO

- *Candida albicans* ATCC 10231
- *Aspergillus niger* ATCC 16404
- *Candida albicans* cepa clínica 1684243 (aislada de paciente con candidiasis vaginal del Hospital Nacional “2 de Mayo”)

2.3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

2.3.1. RECOLECCIÓN DE LAS MUESTRAS

Las plantas (ver tabla N° 1) fueron recolectadas en el departamento de Amazonas, Apurímac y Lima en el mes de junio del 2 004.

TABLA N° 1: PLANTAS UTILIZADAS EN LA TESIS

Especie	Nombre común	Lugar de Recolección Dpto. (Prov./Distrito)
<i>Annona cherimolia</i> Mill	Chirimoya	Amazonas (Luya/Tingo)
<i>Annona muricata</i> L.	Guanábana	Lima (Lima/San Martín de Porres)
<i>Bidens pilosa</i> L.	Cadillo	Amazonas (Luya/Tingo)
<i>Hypericum laricifolium</i>	Chinchango	Amazonas (Luya/Tingo)
<i>Juglans neotropica</i> Diels	Nogal	Amazonas (Luya/Tingo)
<i>Piper spp.</i>	Matico	Amazonas (Chachapoyas/Chachapoyas)
<i>Plantago major</i> L.	Llantén	Amazonas (Chachapoyas/Chachapoyas)
<i>Psidium guajava</i> L.	Guayaba	Amazonas (Luya/Tingo)
<i>Schinus molle</i> L.	Molle	Apurímac (Aymaraes/Toraya)
<i>Spartium junceum</i> L.	Retama	Amazonas (Chachapoyas/Chachapoyas)

2.3.2. ESTABILIZACIÓN DE LA PLANTA

El material recolectado fue acondicionado y estabilizado en la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos a 32 °C de temperatura

aproximadamente por tres a cuatro días. Las partes que se usaron fueron hojas, corteza, partes aéreas y planta entera dependiendo de la planta (ver tabla N° 2)

Una vez estabilizada la muestra se sometió a un proceso de reducción de tamaño de partículas en un molino de cuchillas # 21.

NOMBRE COMÚN	FAMILIA	NOMBRE COMÚN	PARTE USADA	USO DE
<i>Artemisia chemilla</i> MB	Asteraceae	Chimichu	HA	F
<i>Artemisia muricata</i> L.	Asteraceae	Guandana	C, H	L
<i>Balaia pilosa</i> L.	Asteraceae	Cacha	HA	F
<i>Hesperium acrotholus</i>	Myrtaceae	Chachango	HA	F
<i>Legnium acrotholus</i> Dcne	Juglandaceae	Regal	C	F
<i>Myrt. pilosa</i>	Myrtaceae	Araco	HA	C
<i>Persea major</i> L.	Myrtaceae	Lianita	HA	C
<i>Podium graveolens</i> L.	Myrtaceae	Guatula	HA	F
<i>Scorria corda</i> L.	Amelanchiaceae	Ardo	C, H	A
<i>Spodopodium graveolens</i> L.	Polakaceae	Relante	HA	C

Partes de la planta: L, corteza; HA, hojas; HA, partes aéreas (hojas, flores y tallos); F, planta entera
 Uso de: Reconstitución: A, Apurimac (Tarma); R, Arequipa; C, Chachapoyas; Arancana.

TABLA N°2: DATOS DE LAS PLANTAS INVESTIGADAS

DIAGRAMA DE FLUJO DE PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

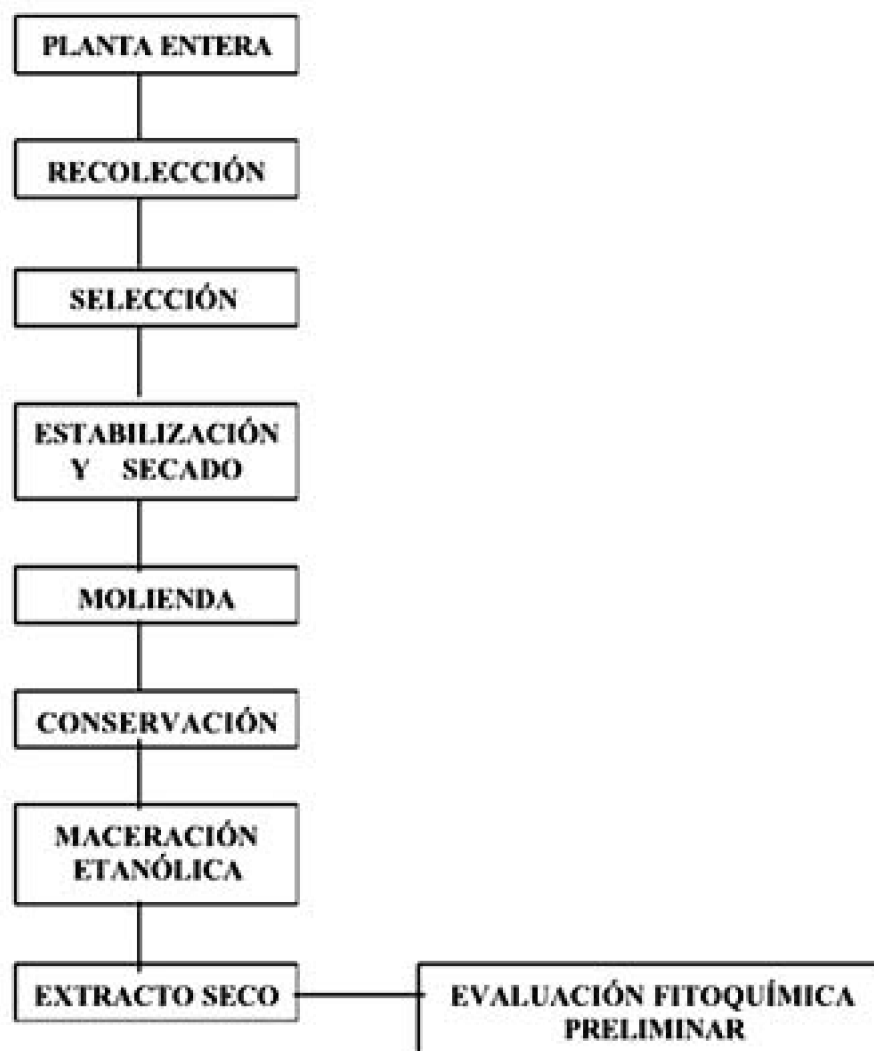
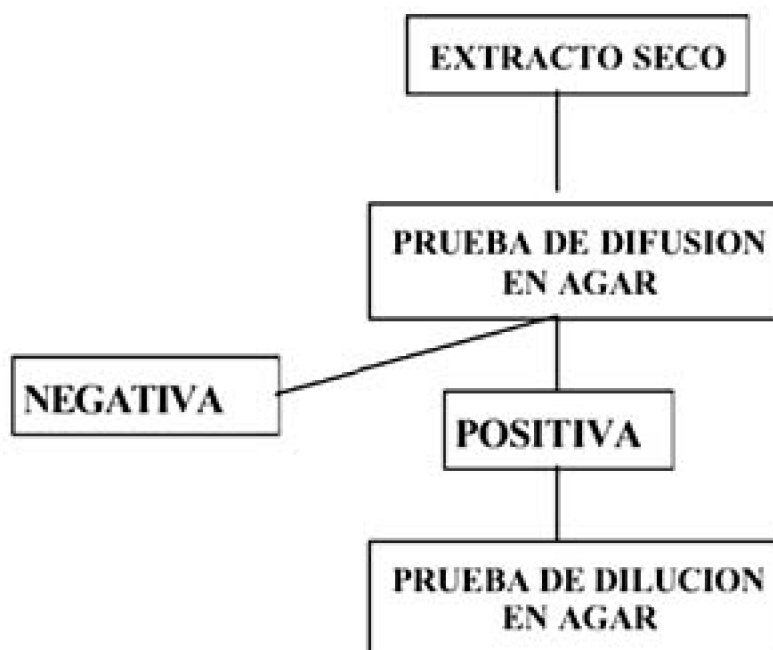


DIAGRAMA DE FLUJO DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA



2.4. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS ESPECIES ESTUDIADAS

Se trabajó con el polvo de la parte elegida de cada especie. La extracción se realizó por maceración (10g de *las muestras seleccionadas* pulverizadas en 90 mL de etanol al 95 %) a temperatura ambiente. El solvente fue reemplazado una vez por solvente nuevo al cuarto día, continuando la maceración hasta completar una semana.

Luego el macerado fue filtrado y evaporado a sequedad en rotavapor a una temperatura inferior a 40 °C. (102)

2.4.1. METODO DE DIFUSIÓN EN AGAR (102)

Fundamento: Esta prueba se basa en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante la difusión de las sustancias activas en un medio sólido la que se evidencia con la formación de halos de inhibición.

Microorganismos

- *Candida albicans* ATCC 10231
- *Aspergillus niger* ATCC 16404
- *Candida albicans* cepa clínica N° 1684293

Preparación de la Suspensión del Inóculo: Los cultivos de cada uno de los microorganismos de prueba fueron reactivados en caldo dextrosa Sabouraud.

Para *Candida albicans* : Se toma una asada de colonias procedente del cultivo fresco (24 h) de *Candida* preparada en agar dextrosa Sabouraud (ADS) y se suspende en 5 mL de solución salina fisiológica estéril y con ayuda de un espectrofotómetro (longitud de onda: 530 nm), se ajusta a una densidad óptica hasta alcanzar la turbidez del tubo N° 3 de la escala de McFarland equivalente a una concentración aproximada de 9×10^8 células de microorganismo/mL.

Para *Aspergillus niger* : Se toma una asada de colonias procedente de cepas de 7 días de antigüedad y se suspende en 5 mL de solución salina fisiológica estéril hasta alcanzar una concentración equivalente a 9×10^8 esporas/mL, realizada por cámara contadora de células y/o comprobada por conteo de diluciones seriadas en placa, realizada por plaqueo de 0,01 mL de una dilución 1:100 provenientes de varias diluciones del inóculo ajustado sobre placas de ADS. Las placas fueron incubadas a 28-30 °C y fueron examinadas diariamente por la presencia de colonias fúngicas. Las colonias fueron contadas como UFC/mL cuando el crecimiento se hizo visible.

Preparación de las Placas: Para la preparación de las placas se utilizó el medio agar dextrosa Sabouraud; previamente reconstituido, esterilizado, enfriado y mantenido a 45 °C, posteriormente se le agregó 1 mL de suspensión del inóculo por cada 100 mL de medio de cultivo, mezclados asépticamente, se agitó suavemente y se repartió en placas Petri a razón de 20 mL por placa, se dejó solidificar y se rotuló con el nombre del microorganismo testigo. Luego se hizo pozos con la ayuda de un sacabocado de acero de 10 mm de diámetro, en el centro de cada placa.

Preparación de las Muestras: Se prepararon a partir del extracto seco, se diluyó con etanol 96%, hasta obtener una concentración de 25 mg/mL.

Inoculación e Incubación de las Muestras: Se procede a colocar 0,1 mL de los extractos etanólicos (25 mg/mL), de las diferentes muestras bajo estudio en los respectivos pozos hechos previamente. Para lograr una mayor difusión de las muestras se dejó reposar por 1 hora a temperatura ambiente y luego se lleva a una temperatura de incubación de 30 °C por 24 para *Candida albicans* y 48 horas para *Aspergillus niger*.

Control Negativo: Se utilizó etanol al 96 %

Controles Positivos: Se utilizó Fluconazol y Nistatina (0,2 mg/mL en dimetilsulfóxido=DMSO)

Las pruebas se realizaron por triplicado.

Lectura e Interpretación de los Resultados: Luego de transcurrido el tiempo de incubación se procedió a realizar la lectura correspondiente con la observación de las zonas claras de inhibición del crecimiento, mediante el registro de los diámetros en mm de estas zonas.

Se seleccionaron las muestras positivas (halo mayor a 18 mm de diámetro), para someterla a la prueba de dilución en agar y determinar la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).

2.4.2. MÉTODO DE DILUCIÓN EN AGAR (7)

Fundamento: Esta prueba se basa en la inhibición del crecimiento fúngico, mediante

la dilución de los extractos etanólicos (sustancias activas) en el agar, y posteriormente se evidencia por la ausencia de crecimiento en las placas.

Microorganismos

- *Candida albicans* ATCC 10231
- *Aspergillus niger* ATCC 16404

Controles Positivos (Agentes Antifúngicos)

- Fluconazol 0,125 a 64 µg/mL
- Nistatina 1- 64 µg/mL (7)

Controles Negativos

- DMSO (Dimetilsulfóxido)
- Etanol 96 %

Muestras

Diluciones seriadas dobles de 62,5 -2 000 µg/mL. Las cuales se preparan a partir del extracto seco de las muestras elegidas. Primero se prepara una solución stock de 100 mg/mL y luego se sigue el esquema de dilución de la tabla N° 3. Para la dilución final 1:50 se utiliza el medio de cultivo como diluyente, obteniendo placas Petri con las concentraciones deseadas de muestra.

Medio de Cultivo

Agar Dextrosa Sabouraud (ADS)

Preparación de las Placas: Para la preparación de las placas se utilizó el medio agar dextrosa Sabouraud; previamente reconstituido, esterilizado, enfriado y mantenido a 45 °C, posteriormente se le agregó 0,25 mL de las diluciones de los extractos etanólicos en DMSO completando a 12,5 mL en las placas petri con el medio de cultivo, mezclar asépticamente; dejar solidificar y se rotula con la dilución, muestra y nombre del microorganismo testigo.

Paso	Concentración de la muestra (µg/mL)	Volumen (mL)	Volumen (mL)	Volumen (mL)	Volumen (mL)	Volumen (mL)	Volumen (mL)
1	1000 (stock)	10	0,5	0,5	1000 (stock)	10	0,5
2	1000 (stock)	10	0,5	0,5	1000 (stock)	10	0,5
3	1000 (stock)	10	0,5	0,5	1000 (stock)	10	0,5
4	1000 (stock)	10	0,5	0,5	1000 (stock)	10	0,5
5	12,5 (stock)	10	0,5	0,5	12,5 (stock)	10	0,5
6	12,5 (stock)	10	0,5	0,5	12,5 (stock)	10	0,5

TABLA N°3: DILUCIÓN DE LAS MUESTRAS

DMSO= Dimetilsulfóxido Paso 4 *: Conc. Intermedia de 12500 ug/mL

Preparación de la Suspensión del Inóculo

Para *Candida albicans* : Se prepara cogiendo con el asa de cultivo 5 colonias 1 mm y de 24 h de crecimiento en placa de ADS que se resuspenden en un tubo de solución salina (CINa 0,85%). Se agita bien y, con ayuda de un espectrofotómetro (longitud de onda: 530 nm), se ajusta a una densidad óptica 0,5 McFarland, añadiendo la cantidad

necesaria de solución salina. Esta solución tiene una concentración aproximada de 1×10^6 - 5×10^6 UFC/mL. UFC= Unidad Formadora de Colonias.

Para *Aspergillus niger* : En el género *Aspergillus* (103) el inóculo se prepara a partir de un cultivo de 7 días de crecimiento a 30 °C en agar glucosado de patata (PDA), medio que induce la formación de conidias o esporangiosporas.

Para facilitar la recogida de conidias, introducir el asa de cultivo en Tween 20 y pasarla por encima de las conidias; después resuspender en solución salina.

Dejar sedimentar las partículas durante 3-5 min., transferir el sobrenadante a otro tubo y agitar vigorosamente durante 15 segundos.

Con ayuda de un espectrofotómetro (longitud de onda: 530 nm), se ajusta a una densidad óptica (DO) de 0,09-0,17 (80-82% transmitancia): 0,41-0,56 McFarland, para obtener una concentración de $1-5 \times 10^6$ UFC/mL.

La cuantificación del inóculo fue realizada por plaqueado de 0,01 mL de una dilución 1:100 del inóculo ajustado sobre placas de ADS. Las placas fueron incubadas a 28-30 °C y fueron examinadas diariamente por la presencia de colonias fúngicas. Las colonias fueron contadas como UFC/mL cuando el crecimiento se hizo visible.

Inoculación e Incubación de las Muestras (7): En la superficie del agar se vierte 0,01 mL (10 µL) de la suspensión de los respectivos inóculos, la cual se esparce por toda la superficie de la placa con la ayuda de una espátula de Drigalsky. Las placas fueron incubadas a 29 °C. El crecimiento fúngico fue chequeado, primero en control de placas preparado sin alguna muestra de prueba, después a las 24, y 48 h dependiendo del período de incubación requerido para un crecimiento visible; 24 horas para *Candida albicans*, y 48 h para *Aspergillus niger*.

La *Concentración Mínima Inhibitoria (CMI)* fue definida como la más baja concentración de extracto que inhibe crecimiento visible en el agar.

2.4.3. ESTUDIO FITOQUÍMICO PRELIMINAR

Con la finalidad de identificar metabolitos activos en las especies más activas de las pruebas anteriores, se realizó un estudio preliminar en diferentes medios de extracción con el siguiente procedimiento:

Extracción Acuosa

Se añadió a un matraz 10g de *las muestras seleccionadas* en polvo, se le agregó 90 mL de agua destilada, se procedió a calentar por una hora a 70 °C agitando, luego se filtró y concentró hasta un volumen de 50 mL.

Extracción Etanólica

Se añadió a un matraz 10g de *las muestras seleccionadas* en polvo, se le agregó 90 mL de etanol, se procedió a calentar por una hora a reflujo al baño de vapor a 65 °C y con agitación. Luego se filtró y se evaporó el alcohol en rotavapor.

Detección de Metabolitos

Se realizó mediante pruebas fisicoquímicas, de caracterización. (32) Entre los metabolitos buscados tenemos a carbohidratos, taninos, compuestos fenólicos,

alcaloides, esteroides, flavonoides, saponinas.

3. RESULTADOS

3.1. MÉTODO DE DIFUSIÓN EN AGAR

Esta prueba nos indicó la acción inhibitoria de los diferentes extractos etanólicos de las plantas a 25 mg/ML evaluados frente a las levaduras *Candida albicans* ATCC 10231, *Candida albicans* cepa clínica; y el hongo filamentoso *Aspergillus íger* ATCC 16404 (ver tabla 4 y figuras 1 al 7)

3.2. MÉTODO DE DILUCIÓN EN AGAR

Esta prueba nos indica la Concentración Mínima Inhibitoria de los extractos etanólicos de las plantas seleccionas con el método anterior frente a la levadura *Candida albicans* ATCC 10231, y el hongo filamentoso *Aspergillus niger* ATCC 16404 (ver tabla 5y figuras 8 a 13)

3.3. ESTUDIO FITOQUÍMICO PRELIMINAR

Los resultados de este estudio se muestran en las tabla 6.

Tabla N°4: ACTIVIDADES ANTIFÚNGICAS DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS CRUDOS

NT: No testeado. DMSO: Dimetilsulfóxido

TABLA N°5: ACTIVIDADES ANTIFUNGICAS DE LOS EXTRACTOS ETANOLICOS

ESPECIES	Length of stay (days)	Travels (times)	Distance (km/hours)	Velocity (km/hour)	Acceleration (m/s ²)
<i>Hypericum perforatum</i> (H)	11	1	1	11	11
<i>Lythrum maritimum</i> L. (L)	11	11	11	111	111
<i>Rosa ruga</i> (R)	11	11	11	1	1
<i>Prunella prinos</i> L. (P)	11	11	11	11	111
<i>Salix virens</i> L. (S)	11	11	11	11	11
<i>Salix virens</i> L. (S)	11	11	11	11	11
<i>Spartium pinnatifidum</i> B. (PB)	11	1	11	11	11

Partes estudiadas: C, corteza; H, hojas; PA, partes aéreas; PE, planta entera N.T.: no testeada; (-): Ausencia; (+/-): Ligera presencia; (+): Presencia.

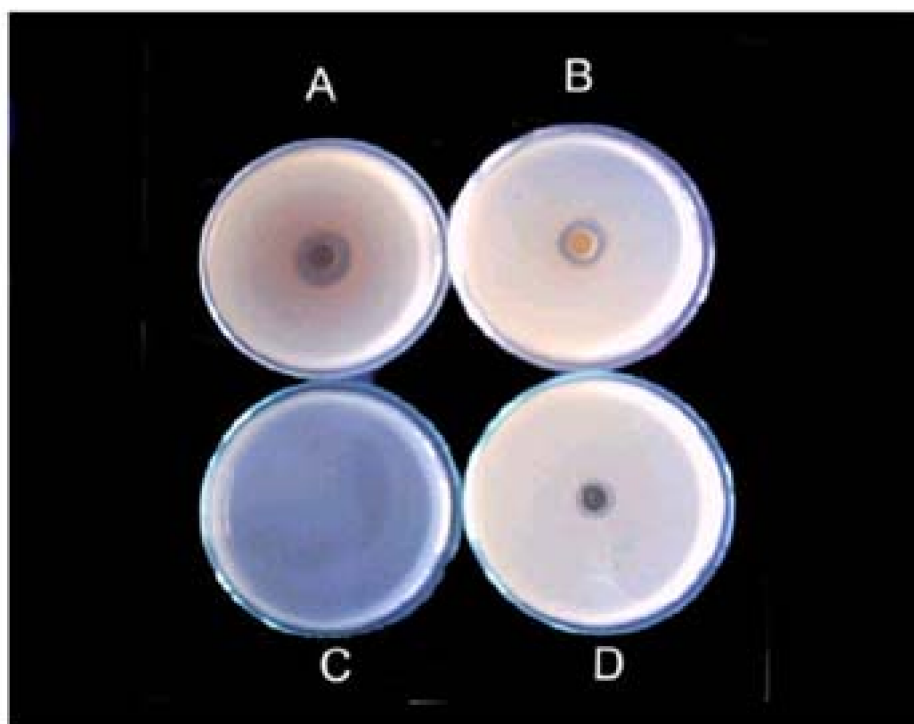


FIGURA N°1: Actividad antifúngica método de difusión en agar de extractos etanólicos de plantas a 25 mg/mL, contra *Candida albicans* ATCC 10231

A: *Juglans neotropica* Diels (nogal) - corteza

B: *Hypericum laricifolium* (chinchango) – partes aéreas

C: Control

D: *Spartium junceum* L. (retama) – planta entera

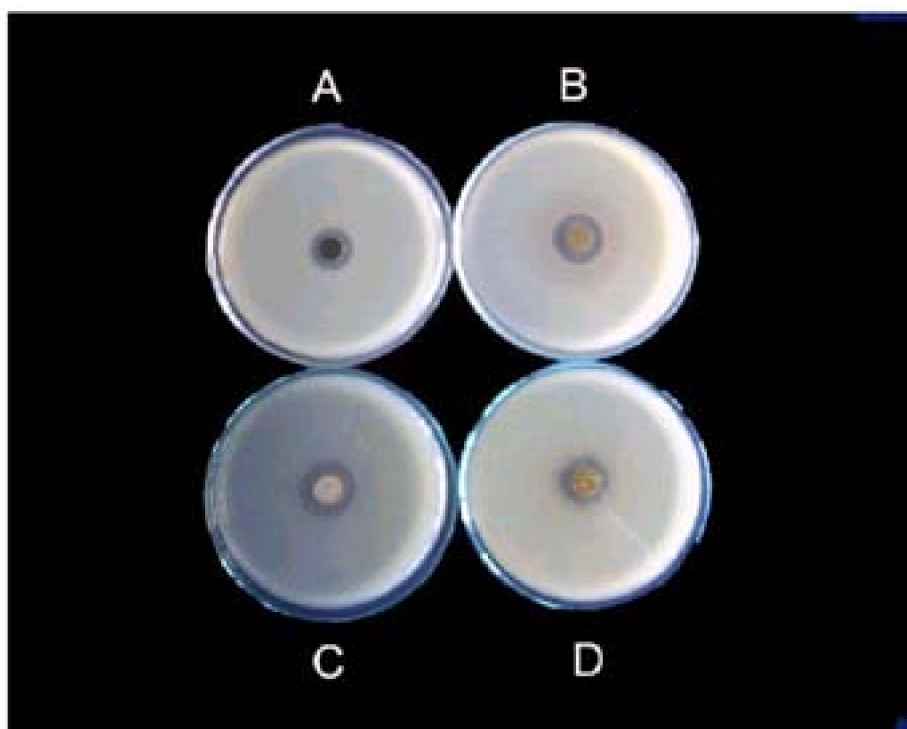


FIGURA N°2: Actividad antifúngica método de difusión en agar de extractos etanólicos de plantas a 25 mg/mL, contra *Candida albicans* ATCC 10231

- A: *Piper spp.* (matipo) - hojas
- B: *Psidium guajava* L. (guayaba) – hojas
- C: *Schinus molle* L. (molle) - corteza
- D: *Schinus molle* L. (molle) - hojas



FIGURA N°3: Actividad antifúngica método de difusión en agar de los controles positivos a 0,2 mg/mL, contra Candida albicans ATCC 10231

F: Fluconazol

N: Nistatina

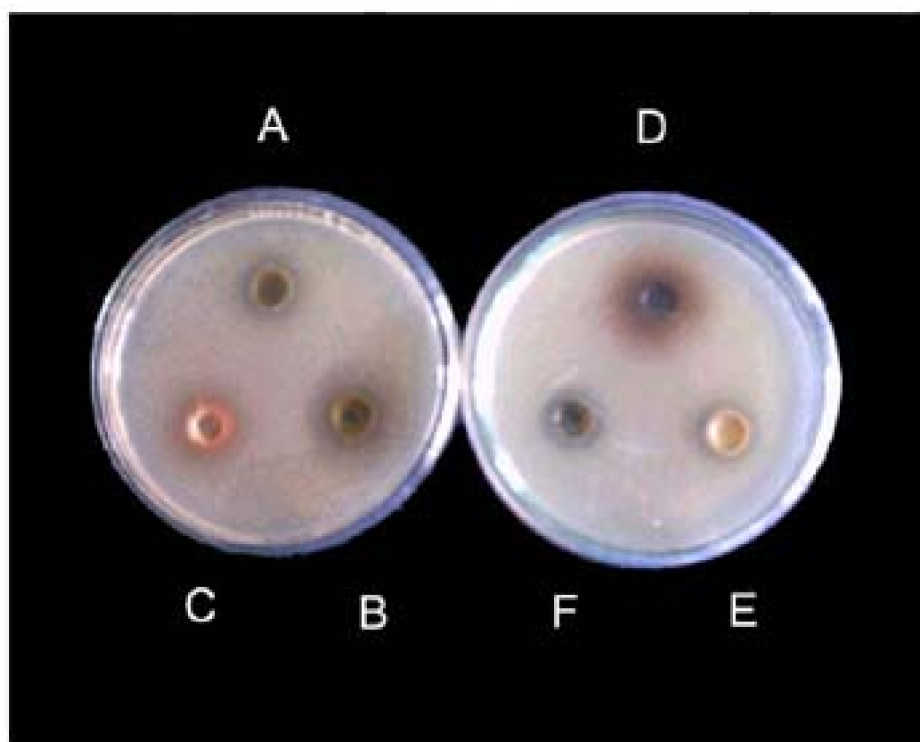


FIGURA N°4: Actividad antifúngica método de difusión en agar de extractos etanólicos de

plantas a 25 mg/mL, contra Candida albicans cepa clínica

A: *Psidium guajava* L. (guayaba) – hojas

B: *Schinus molle* L. (molle) - hojas

C: *Schinus molle* L. (molle) - corteza

D: *Juglans neotropica* Diels (nogal) - corteza

E: *Hypericum laricifolium* (chinchango) – partes aéreas

F: *Piper spp.* (matico) - hojas

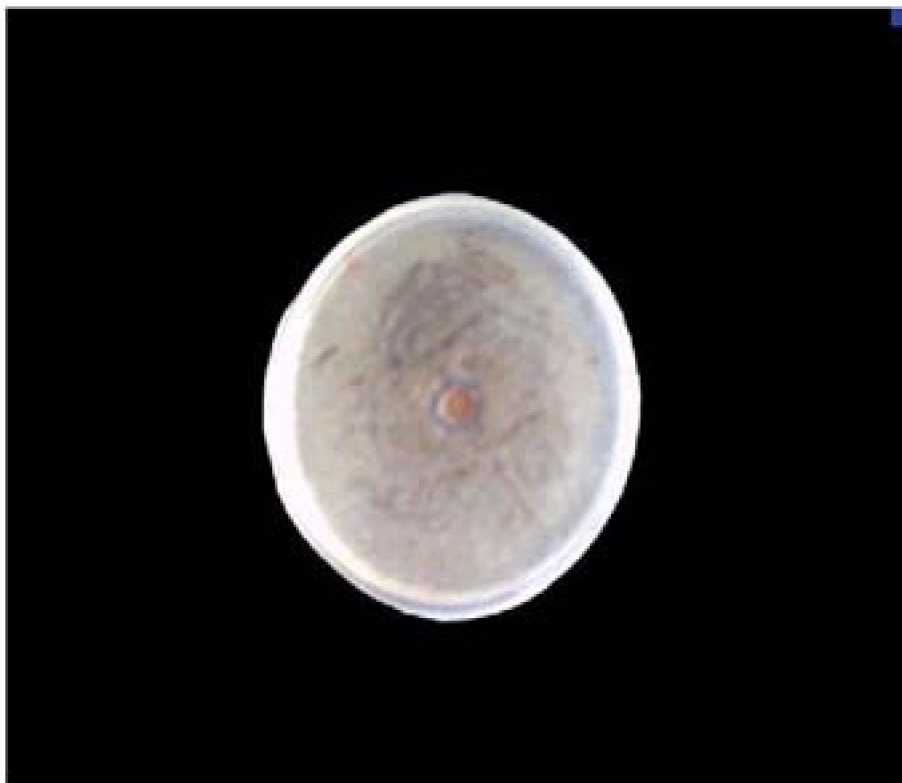


FIGURA N°5: Actividad antifúngica método de difusión en agar de extractos etanólicos de corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) a 25 mg/mL, contra *Aspergillus niger* ATCC 16404

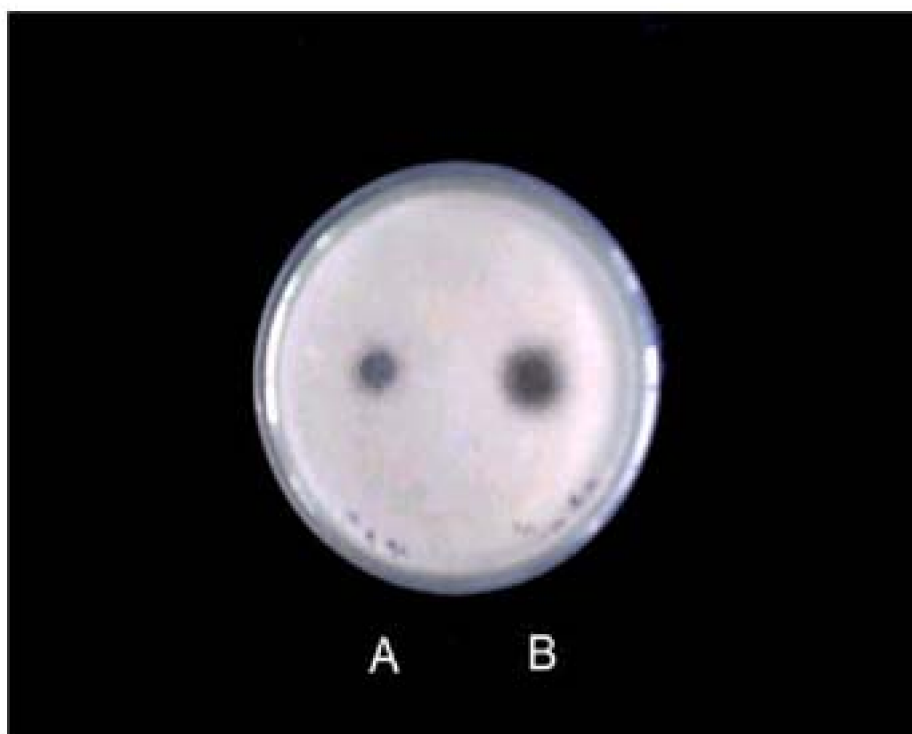


FIGURA N°6: Actividad antifúngica método de difusión en agar de extractos etanólicos de plantas a 25 mg/mL, contra *Aspergillus niger* ATCC 16404

A: *Juglans neotropica* Diels (nogal) - corteza

B: *Hypericum laricifolium* (chinchango) – partes aéreas

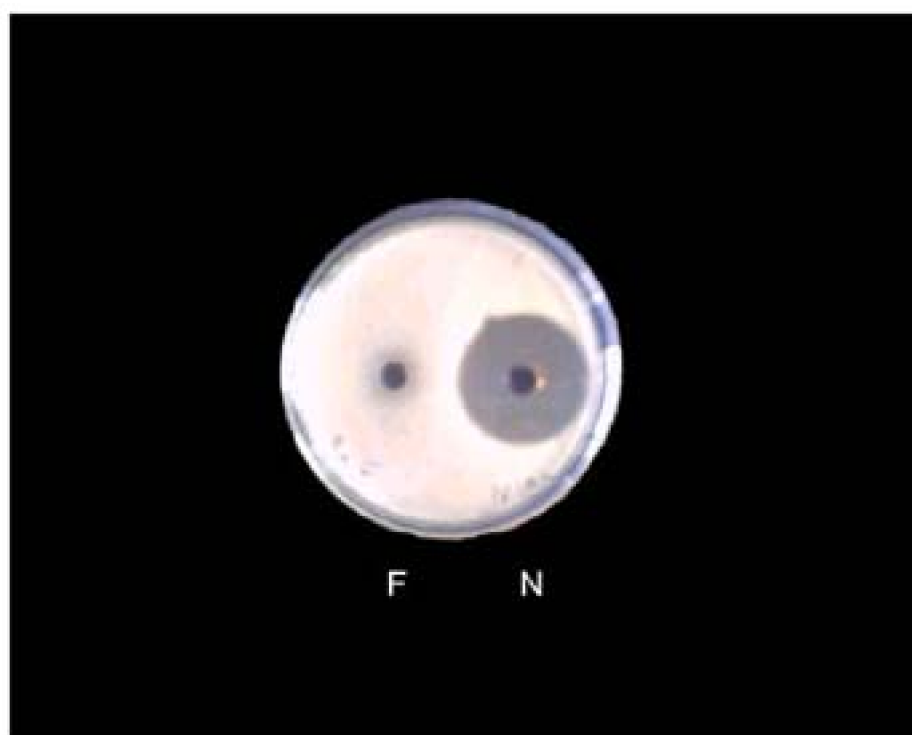


FIGURA N°7: Actividad antifúngica método de difusión en agar de los controles positivos a

0,2 mg/mL, contra Aspergillus niger ATCC 16404

F: Fluconazol

N: Nistatina

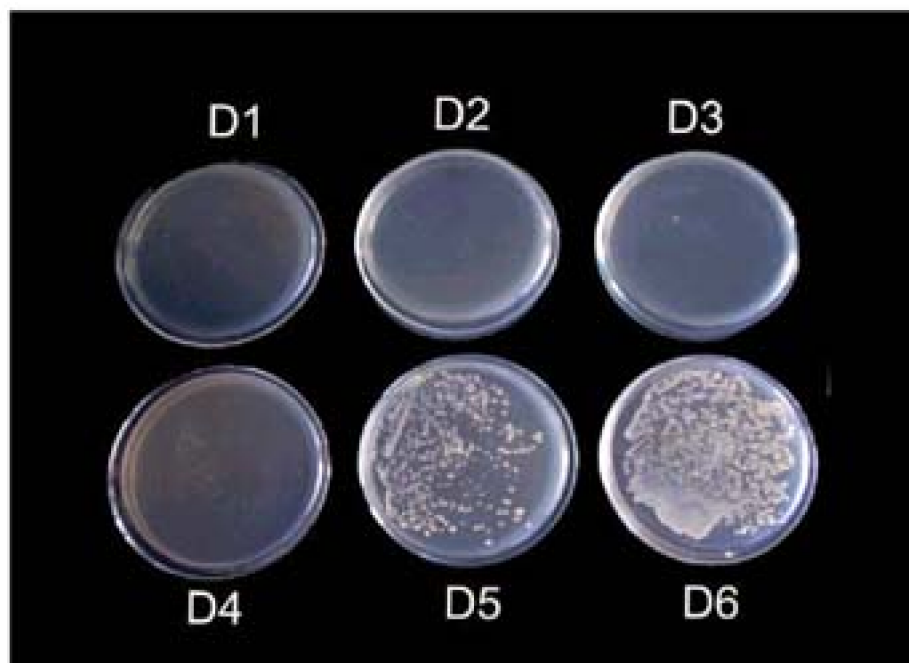


FIGURA N°8: Actividad antifúngica método de dilución en agar de los extractos etanólicos de plantas, contra Candida albicans ATCC 10231. Muestra: Hypericum laricifolium (partes aéreas). MI: 250 µg/mL

D1: 2 000 µg/mL

D2: 1 000 µg/mL

D3: 500 µg/mL

D4: 250 µg/mL

D5: 125 µg/mL

D6: 62,5 µg/mL

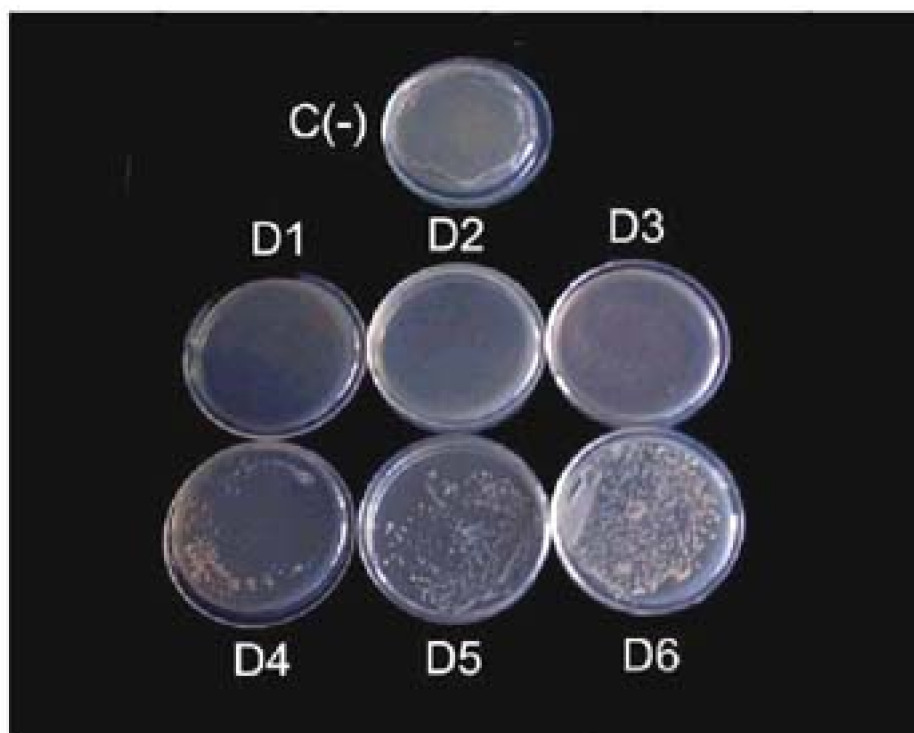


FIGURA N°9: Actividad antifúngica método de dilución en agar de los extractos etanólicos de plantas, contra *Candida albicans* ATCC 10231.

Muestra: *Piper spp.* (hojas)

CMI: 500 $\mu\text{g/mL}$

C(-): Control negativo

D1: 2 000 $\mu\text{g/mL}$

D2: 1 000 $\mu\text{g/mL}$

D3: 500 $\mu\text{g/mL}$

D4: 250 $\mu\text{g/mL}$

D5: 125 $\mu\text{g/mL}$

D6: 62,5 $\mu\text{g/mL}$

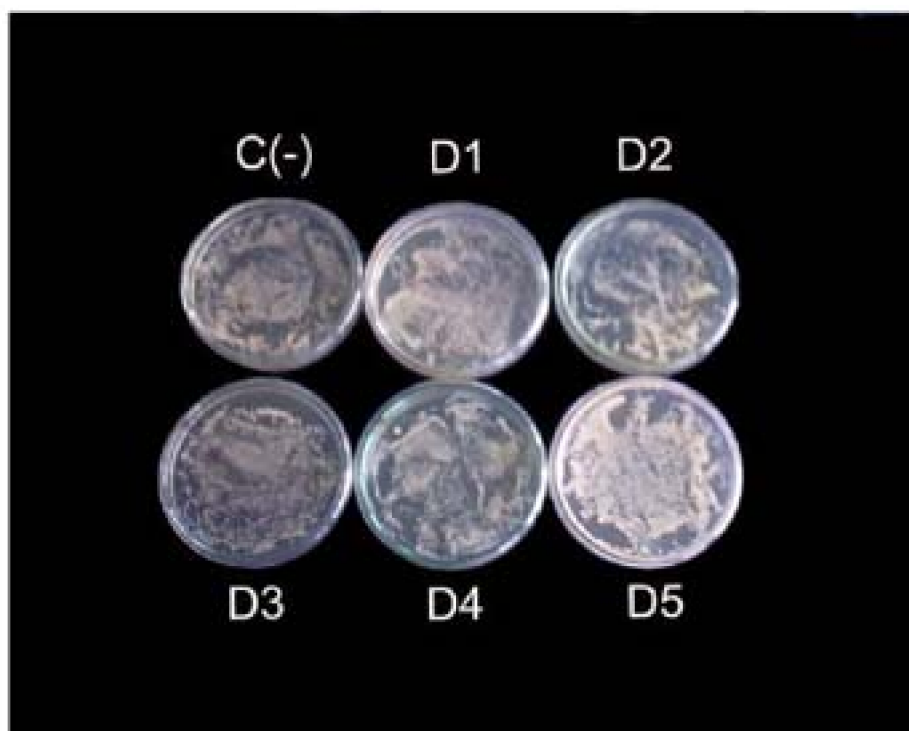


FIGURA N°10: Actividad antifúngica método de dilución en agar de fluconazol, contra Candida albicans ATCC 10231.

CMI: >32 µg/mL

C(-): Control negativo

D1: 32 µg/mL

D2: 16 µg/mL

D3: 8 µg/mL

D4: 4 µg/mL

D5: 2 µg/mL

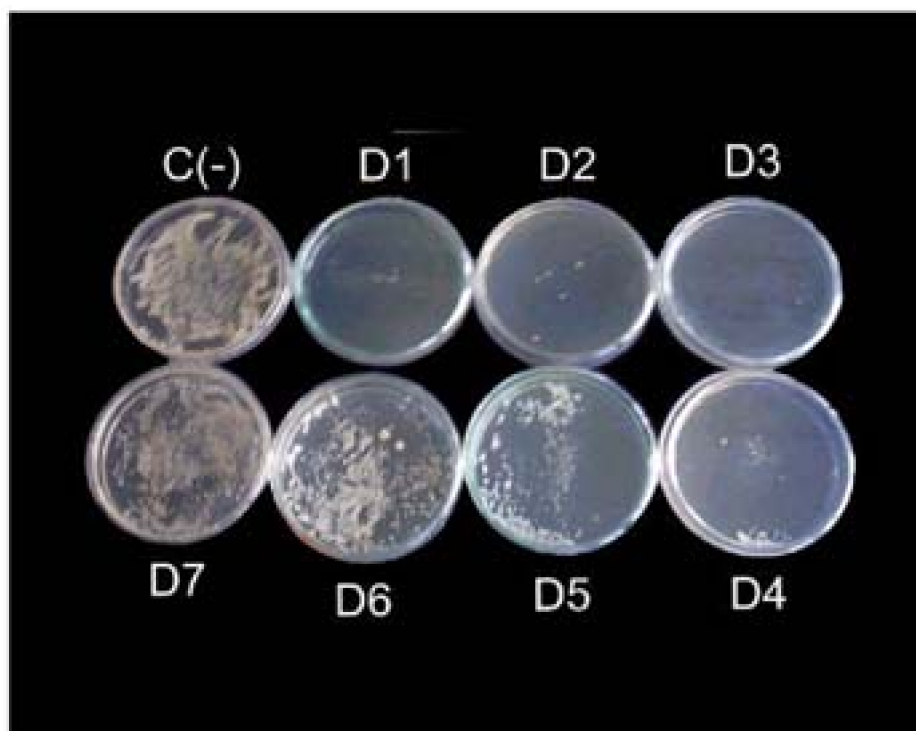


FIGURA N°11: Actividad antifúngica método de dilución en agar de nistatina, contra *Candida albicans* ATCC 10231

CMI: 8 µg/mL

C(-): Control negativo

D1: 64 µg/mL

D2: 32 µg/mL

D3: 16 µg/mL

D4: 8 µg/mL

D5: 4 µg/mL

D6: 2 µg/mL

D7: 1 µg/mL

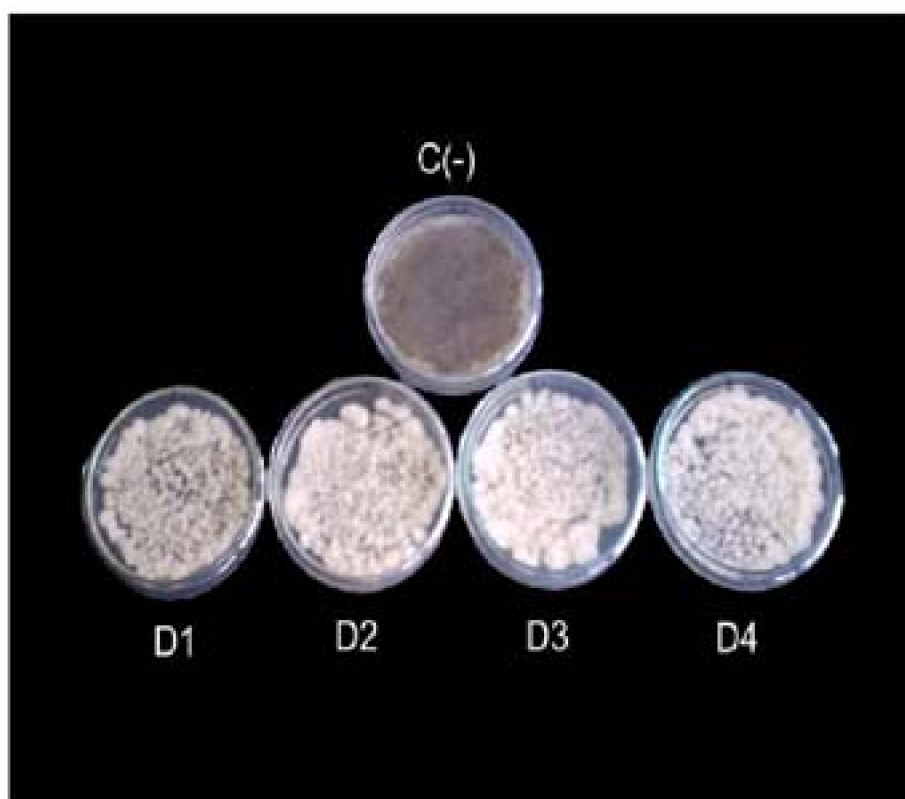


FIGURA N°12: Actividad antifúngica método de dilución en agar de fluconazol, contra Aspergillus niger ATCC 16404

CMI: > 64 µg/mL

C(-): Control negativo

D1: 64 µg/mL

D2: 32 µg/mL

D3: 16 µg/mL

D4: 8 µg/mL

D5: 4 µg/mL

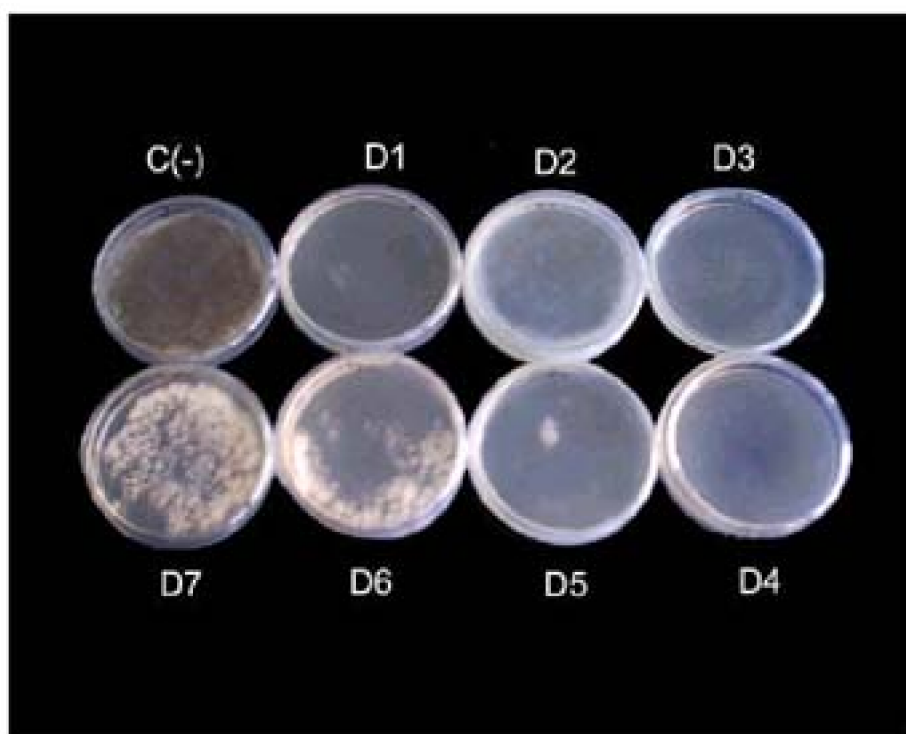


FIGURA N°13: Actividad antifúngica método de dilución en agar de nistatina, contra *Aspergillus niger* ATCC 16404 CMI: 4 $\mu\text{g/mL}$

C(-): Control negativo

D1: 64 $\mu\text{g/mL}$

D2: 32 $\mu\text{g/mL}$

D3: 16 $\mu\text{g/mL}$

D4: 8 $\mu\text{g/mL}$

D5: 4 $\mu\text{g/mL}$

D6: 2 $\mu\text{g/mL}$

D7: 1 $\mu\text{g/mL}$

4. DISCUSIÓN

Las plantas investigadas son usadas de diversa manera en el uso popular en la zona de recolección tal como se observa en los cuadros respectivos; muchas de ellas se usan en problemas dérmicos y problemas infecciosos. Los resultados de la prueba de difusión en agar nos demuestran que el 50 % de las plantas investigadas tienen cierta actividad antifúngica principalmente contra *Candida albicans* ATTC 10231, y dos de ellas (20% de las plantas) una actividad mínima contra *Aspergillus niger* ATCC 16404. Esto avala el potencial que tienen estas plantas como antifúngicos y su riqueza en principios activos antifúngicos; así como una acertada selección basada en gran parte a su quimiotaxonomía.

En el caso del género *Annona*, tanto el extracto etanólico de las hojas de *Annona cherimolia* Mill., como de las hojas y corteza de *Annona muricata* L. no presentaron ninguna actividad significativa contra los hongos analizados; otros estudios demuestran que las semillas de *Annona cherimolia*, tienen actividad antifúngica con valores de CMI de 4 mg/mL para *T. mentagrophytes*, *Aspergillus niger* y *Candida albicans* y 8 mg/mL para *T. rubrum*.(7)En reportes previos de la naturaleza química o actividad antimicrobiana han sido descritos alcaloides y acetogeninas.En la corteza de *Annona salzmanii* D.C.; se encontraron 4 alcaloides bencilisoquinolinas con actividad antifúngica: reticulina, anonaina, isoboldina y laurelliptina. (62), también el extracto de hexano de la corteza del tallo de *A. Glabra* demostró que posee actividad antifúngica. (104)

El extracto etanólico de las partes aéreas de *Bidens pilosa* L, no mostró actividad alguna frente a los hongos evaluados; lo que es confirmado por otros estudios en los

cuales extractos etanólicos, acuosos, y metanólicos fueron inactivos contra *Neurospora crassa*, *Cladosporium cucumericum*, *Microsporum gypseum*, *Trichophyton mentagrophytes* y *Aspergillus niger*; por otro lado el extracto CHCl_3 de la planta entera y de la raíz, así como el extracto metanólico y acuoso de las hojas de *Bidens pilosa* L., demostraron actividad frente a *Candida albicans*. (105) Se reporta la actividad de la droga “cerbiden” de *Bidens cernua* L., la cuál es significativa contra *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. guilliermondii*. (106)

El extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* L., no mostró actividad frente a los hongos evaluados. Otros estudios revelan similares resultados respecto al extracto etanólico, sin embargo el extracto metanólico posee una débil actividad frente a *Candida albicans* y *Saccharomyces cerevisiae* (45); por otro lado el extracto etanólico de las hojas de *Plantago major* L. mostró actividad frente a otras especies de *Candida*, con un CMI de 125 $\mu\text{g/mL}$ para *Candida krusei* y 1 000 $\mu\text{g/mL}$ para *Candida tropicalis*. (78)

El extracto etanólico de las partes aéreas de *Hypericum laricifolium* (chinchango) mostró actividad contra *Candida albicans* ATCC 10231, con un halo de inhibición de 22 mm y una CMI de 250 $\mu\text{g/mL}$, y un halo de inhibición de 17 mm para *Candida albicans* cepa clínica; está es la primera vez que se reporta esta actividad para esta especie. Esta especie también tiene potencial por su actividad antibacteriana, antiviral y como antiinflamatorio. (32, 26) Otras especies de este género muestran actividad antifúngica (contra *Candida albicans*, *Cladosporium cucumericum*); así tenemos *Hypericum calycinum*, *Hypericum roeperanum*, *Hypericum brasiliense*, *Hypericum patulum*, e *Hypericum mysorense*; siendo los principios activos responsables de la actividad antifúngica los derivados de floroglucinol, xantonas, hiperbrasilona, entre otros. (64-67) En el estudio fitoquímico preliminar se demostró la presencia de taninos, compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, esteroides; los cuales pueden ser los responsables de la actividad biológica. Además se ha demostrado la presencia de β -sitosterol, ácido ferúlico, quercetina y ácido p-hidroxibenzoico en el extracto sucesivo en petróleo ligero y etanol de hojas, tallos y flores (26); y se sabe que los tres primeros poseen actividad candidacida y el último es fungistático. Es importante profundizar el estudio de esta planta como una fuente potencial de compuestos antifúngicos.

El extracto etanólico de la corteza de *Juglans neotropica* Diels (nogal) mostró actividad contra *Candida albicans* ATCC 10231, con un halo de inhibición de 24 mm y una CMI de 250 $\mu\text{g/mL}$, y un halo de inhibición de 17 mm para *Candida albicans* cepa clínica; además tiene una débil actividad contra el hongo filamentoso *Aspergillus niger* ATCC 16404, con un halo de inhibición de 14 mm. Estos resultados concuerdan con los estudios realizados por López y col., donde se demuestra que el extracto metanólico de la corteza de *Juglans neotropica* Diels tiene actividad antifúngica (68); adicionalmente se reporta que los extractos acuosos (15 $\mu\text{g/mL}$) de *J. regia* inhiben completamente el crecimiento de *Microsporum canis* y *Trichophyton violaceum*, y en más de 90% de *Trichophyton mentagrophytes*. (107) Por otro lado el extracto etanólico de la corteza de *Juglans cinerea* tiene actividad contra *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Cryptococcus neoformans*, *Trichophyton mentagrophytes*, y *Microsporum gypseum*. (108) El análisis fitoquímico preliminar revela la presencia de taninos, compuestos fenólicos, y flavonoides los cuales pueden ser los responsables de

la actividad biológica. La quercetina, eugenol, beta-sitosterol encontrados en *J. regia* tienen actividad candidacida.

El extracto etanólico de las hojas de *Piper spp.* (matipo) mostró actividad contra *Candida albicans* ATCC 10231, con un halo de inhibición de 19 mm y una CMI de 500 µg/mL, y un halo de inhibición de 17 mm para *Candida albicans* cepa clínica; y además tiene una débil actividad contra el hongo filamentoso *Aspergillus niger* ATCC 16404, con un halo de inhibición de 13 mm. Es la primera vez que se reporta esta actividad en esta especie, pero existen numerosas especies de este género que tienen actividad antifúngica entre ellas tenemos *Piper crassinervium* Kunth, *Piper lanceaefolium* HBK, *Piper angustifolium*, *Piper guineense*, *Piper tuberculatum*, *Piper arboreum*, *Piper hispidum*, *Piper fulvescens*, y *Piper coruscans*. (68, 70-77, 109) El análisis fitoquímico preliminar revela la presencia de taninos y compuestos fenólicos entre sus principales constituyentes, los cuales pueden ser los responsables de la actividad biológica. En este género se han reportado los siguientes compuestos antifúngicos: hidroquinonas preniladas y sakuretina, con actividades comparables a los controles (nistatina y miconazol) (70); canfor y canfeno principales constituyentes del aceite esencial de *Piper angustifolium* (71); numerosas amidas (73-75); derivados del ácido benzoico (76), neolignanós (77) y derivados ciclopentanodionas (coruscanona A y B). (109) Todos estos resultados nos remarcen el gran potencial de este género en este campo de la investigación el cuál debe ser profundizado.

El extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba) mostró actividad contra *Candida albicans* ATCC 10231, con un halo de inhibición de 23 mm y una CMI de 250 µg/mL, y un halo de inhibición de 16 mm para *Candida albicans* cepa clínica. Estos resultados concuerdan con los hallados por Holetz y col. (*Candida albicans* CMI = 125 µg/mL, *C. krusei* CMI = 15,6 µg/mL, *C. parasilopsis* CMI = 62,5 µg/mL, *C. tropicalis* CMI = 15,6 µg/mL). (78) En este género el extracto metanólico de la pulpa de la fruta de *Psidium sartorianum* mostró actividad significativa contra especies de *Trichophyton*, mientras que las especies de *Candida* no fueron sensibles. (110). El análisis fitoquímico preliminar reveló la presencia de taninos, compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides, y saponinas; los cuales podrían explicar la actividad biológica de la planta. La quercetina (111) y aceites esenciales (cariofileno, etc.) (112), tienen propiedades candidacidas y fungicidas.

El extracto etanólico de la corteza y las hojas de *Schinus molle* L. (molle) mostraron actividad contra *Candida albicans* ATCC 10231, con un halo de inhibición de 22 mm y 23 mm respectivamente, y un CMI de 250 µg/mL para ambos extractos, y un halo de inhibición de 16 mm para *Candida albicans* cepa clínica, para ambos extractos. Estos hallazgos concuerdan con los encontrados en la literatura donde el extracto acuoso de las hojas de *Schinus molle* L. tiene actividad contra *Candida albicans* con una CMI de 105 µg/mL. (113) Otros estudios revelan que el aceite esencial de las hojas de *Schinus molle* L. tiene una fuerte actividad contra dermatofitos, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*, *A. flavus* y otras especies de *Aspergillus*; también se reporta que las partes aéreas tienen actividad contra *Candida albicans*. (114, 115) Por otro lado la especie *Schinus terebinthifolius* tiene actividad contra *Candida albicans*. (113) El análisis fitoquímico preliminar de la corteza y hojas de *Schinus molle* revelan la presencia de taninos,

compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides y saponinas; estos pueden explicar la actividad biológica de la planta. El ensayo bioautográfico con *Candida albicans*, del extracto acuoso de *Schinus molle* reveló zonas claras de inhibición con un Rf de 0,89, lo que demuestra que las sustancias responsables de la actividad antifúngica son fuertemente apolares. (113) Los resultados obtenidos demuestran el gran potencial de esta planta como fuente de compuestos antifúngicos.

El extracto etanólico de la planta entera de *Spartium junceum* L. (retama) mostró actividad contra *Candida albicans* ATCC 10231, con un halo de inhibición de 15 mm. El extracto no muestra actividad contra los otros hongos evaluados. El análisis fitoquímico preliminar reveló la presencia de taninos, compuestos fenólicos, alcaloides, flavonoides y saponinas. La quercetina (61) encontrada en *Spartium junceum* tiene actividad candidacida y fungicida.

CONCLUSIONES

Los extractos etanólicos a una concentración de 25 mg/mL; de las partes aéreas de *Hypericum laricifolium*, corteza de *Juglans neotropica* Diels, hojas de *Piper spp.*, hojas de *Psidium guajava* L., corteza y hojas de *Schinus molle* L. y planta entera de *Spartium junceum* L.; tienen actividad antifúngica significativa con un halo de inhibición mayor a 18 mm, excepto para la última que es de 15 mm en la prueba de difusión en agar contra *Candida albicans* ATCC 10231; y una débil actividad contra *Candida albicans* cepa clínica con un halo de inhibición entre 16 y 17 mm.

Los extractos etanólicos a una concentración de 25 mg/mL; de las hojas de *Annona cherimolia* Mill., corteza y hojas de *Annona muricata* L., partes aéreas de *Bidens pilosa* L., y hojas de *Plantago major* L.; no tienen actividad antifúngica significativa en la prueba de difusión en agar contra *Candida albicans* ATCC 10231, y *Candida albicans* cepa clínica.

Los extractos etanólicos de las partes aéreas de *Hypericum laricifolium*, corteza de *Juglans neotropica* Diels, hojas de *Psidium guajava* L., corteza y hojas de *Schinus molle* L.; presentaron una CMI de 250 µg/mL y de 500 µg/mL para hojas de *Piper spp.*, evaluados contra *Candida albicans* ATCC 10231.

Los extractos etanólicos a una concentración de 25 mg/mL de la corteza de *Juglans neotropica* Diels y las hojas de *Piper spp.*, tienen una débil actividad contra *Aspergillus niger* ATCC 16404 con un halo de inhibición de 14 mm y 13 mm respectivamente, evaluados por la prueba de difusión en agar.

Los extractos etanólicos a una concentración de 25 mg/mL de las hojas de *Annona*

cherimolia Mill., corteza y hojas de *Annona muricata* L., partes aéreas de *Bidens pilosa* L., partes aéreas de *Hypericum laricifolium*, hojas de *Plantago major* L. hojas de *Psidium guajava* L., corteza y hojas de *Schinus molle* L. y planta entera de *Spartium junceum* L.; no tienen actividad contra el *Aspergillus niger* ATCC 16404, evaluados por la prueba de difusión en agar.

RECOMENDACIONES

Continuar el trabajo de investigación, en especial enfatizando en la parte fitoquímica con las muestras que posean actividad antifúngica consistente por medio de ensayos bioautográficos.

Continuar la investigación con las muestras que no posean actividad, utilizando otros métodos de extracción.

Realizar bioensayos en animales de experimentación para determinar la toxicidad de las diferentes plantas.

Realizar trabajos de investigación similares, principalmente en el campo etnobotánico en las diferentes regiones de nuestro país, en la búsqueda de nuevos compuestos antifúngicos en particular y antimicrobianos en general.

BIBLIOGRAFÍA

- Desmarchelier C, Witting F. Etnomedicina y bioactividad - sixty medicinal plants from the Peruvian Amazon, ecology, ethnomedicine and bioactivity 1^{ra} ed. Lima; 2000.
- Sagástegui Alva A, Dillon MO, Sánchez Vega I, Leiva González S, Lezama Asencio P. Diversidad Florística del Norte de Perú. [citado 10 Oct 2004]. Disponible en: http://www.sacha.org/envir/Perú/Perú_sp.htm.
- Brack Egg Antonio Diccionario Enciclopédico de plantas útiles del Perú. Cuzco: CBC; 1999.
- Estrella E. Plantas Medicinales Amazónicas: Realidad y Perspectivas Tratado de Cooperación Amazónica: Secretaría Pro Tempore Lima 1995
- Obregón Vilchez Lida Fitoterapia: Importancia de su desarrollo al servicio de salud FITO 2003 Lima.
- Machado Rocha Leandro Materias primas vegetales para la industria de fitofarmacos FITO 2003 Lima.
- Navarro Garcia VM, Gonzalez A, Fuentes M, Aviles M, Rios MY, Zepeda G, Rojas MG Antifungal activities of nine traditional Mexican medicinal plants. J Ethnopharmacol. 2003; 87(1):85-8.
- Lopez SN, Castelli MV, Zacchino SA, Dominguez JN, Lobo G, Charris-Charris J, Cortes JC, Ribas JC, Devia C, Rodriguez AM, Enriz RD. In vitro antifungal evaluation and structure-activity relationships of a new series of chalcone derivatives and synthetic

- analogues, with inhibitory properties against polymers of the fungal cell wall. *Bioorg Med Chem.* 2001; 9(8):1999-2013.
- Zacchino S Estratégias para a descoberta de novos agentes antifúngicos. En: Yunes and Calixto eds. *Plantas como fontes de novos medicamentos.* SC, Brasil: Grifos (Ed); 2001.
- Maoz M y Neeman I Antimicrobial effects of aqueous plant extracts on the fungi *Microsporum canis* and *Trichophyton rubrum* and on three bacterial species *Letters in Applied Microbiology* 1998; 26: 61-63.
- Gupte M, Kulkarni P, Ganguli BN. Antifungal antibiotics *Appl Microbiol Biotechnol* 2002; 58:46-57.
- López Lillo A & Sánchez de Lorenzo Cáceres JM. *Arboles en España Manual de identificación 2ª edición* Madrid: Ed. Mundi-Prensa; 2001.
- Palacios Vaccaro, Julio *Plantas Medicinales Nativas del Perú – II.* Lima: CONCYTEC; 1996.
- Chen CY, Chang FR, Pan WB, Wu YC. Four alkaloids from *Annona cherimola*. *Phytochemistry.* 2001 Apr;56(7):753-7.
- Phytochemical Database, USDA - ARS - NGRL, Beltsville Agricultural Research Center, Beltsville, Maryland. [citado 2004 Nov 12]. Disponible en: <http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/duke/ethnobot.pl>.
- Taylor L. *Annona muricata*. En *Herbal Secrets of the Rainforest*. 2nd edition. Austin: Sage Press, Inc.; 2002.
- Ministerio de Agricultura del Perú Portal Agrario Guanábana. Disponible en http://www.portalagrario.gob.pe/rrnn_guanabana.shtml.
- Ethnohealth Graviola [citado 15 Nov 2004]. Disponible en: <http://www.ethnohealth.com/esp/grv/>.
- Dillon MO & Sagástegui Alva A Tribal Classification And Diversity. In *The Asteraceae Of Perú* Arnaldoa 8(2): 25-44. 2001(2002)
- Taylor L. *Bidens pilosa* L. En *The Healing Power of Rainforest Herbs*. Carson City, NV: Raintree Nutrition, Inc.; 2004.
- Lastra HA & Ponce de León H. *Bidens pilosa* Linné *Rev Cubana Plant Med* 2001; (1):28-33.
- Alvarez Avalos A, Montero Gómez MJ, Pomar Montalvo F, y Sánchez Gobin E Actividad antiulcerosa de un extracto etanólico de *Bidens pilosa* L. var. *radiata* Schult. Bip. en ratas *Rev Cubana Plant Med* 1998;3(3):12-7.
- Bidens pilosa* Chemicals Raintree Nutrition, Inc. Carson City, NV 89701. 2004. [citado 10 Nov 2004]. Disponible en: <http://www.rain-tree.com/picao-preto.chemicals.pdf>
- Bidens pilosa* Traditional Uses Raintree Nutrition, Inc. Carson City, NV 89701. 2004. [citado 10 Nov 2004]. Disponible en: <http://www.rain-tree.com/picao-preto.traditional-uses.pdf>
- Ulloa Ulloa C & Moller Jorgensen P *Arboles y Arbustos de los Andes del Ecuador*. [citado 15 Oct 2004]. Disponible en http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=201&taxon_id=116180

- El-Seedi HR, Ringbom T, Torssell K, Bohlin L. Constituents of *Hypericum laricifolium* and their cyclooxygenase (COX) enzyme activities. Chem Pharm Bull (Tokyo). 2003 Dec;51(12):1439-40.
- Flora of the Andes Clusiaceae Clusiáceas. [citado 23 Set 2004]. Disponible en http://www.sacha.org/famil/a_to_m/clusi.htm
- Barnes Joanne et. al. St. John's wort (*Hypericum perforatum* L.): a review of its chemistry, pharmacology and clinical properties. Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2001; 53: 583-600.
- Metadata African Organization Information System. [citado en 2 Nov 2004]. Disponible en: <http://www.metafro.be/xylarium/species/SN6406>.
- Robson, N. K. B., Studies in the genus *Hypericum* L. (Guttiferae). 7. Section 29. Brathys (part 1) Bull. Brit. Mus. (Nat. Hist.), Bot., 1987. p. 47
- Briceño Benito & Morillo Gilberto Catálogo Abreviado de las Plantas con Flores de los Páramos de Venezuela. Parte I. Dicotiledóneas (Magnoliopsida) Acta Bot. Venez. 2002; 25(1).
- Ruiz Urbina MH. Estudio de la Actividad Antibacteriana y Antiviral de *Hypericum laricifolium* del Perú [Tesis]. Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM. Lima; 2003.
- Soukup Jaroslav Vocabulario de los nombres vulgares de la flora Peruana. Lima: Colegio Salesiano; 1971.
- Ceroni Stuva Aldo Datos etnobotánicos del poblado de Huaylingas. Cuenca la gallega. Morropon. Piura Ecología Aplicada. 2002; 1(1).
- Centro de Investigación, Educación y Desarrollo (CIED) Nogal. [citado 17 Jul 2004]. Disponible en <http://www.ciedPeru.org/productos/nogal.htm>
- Macbride, J. F. Juglandaceae, Flora of Perú Field Museum of Natural History, Botanical Series Collation: 13(2/2): 263—266
- Furnani G., et al. Tabla de Botánica Sistemática Centro Universitario para la Tutela y la Gestión del Ambiente y del Agro-Ecosistema Universidad de Catania Departamento de Botánica. Catania; 2004.
- Rodríguez–Ramírez JV. Estudio Preliminar Sobre La Diversidad y Abundancia del Género Piper L. En Cuatro Tipos De Vegetación Dentro De Las Áreas Naturales Protegidas (Oxapampa, Pasco, Perú) Pontificia Universidad Católica del Ecuador Escuela de Ciencias Biológicas. [citado 26 Oct 2004]. Disponible en: http://www.jbmperu.org/Pas-2004.htm#_ftnref1.
- Vasquez M.R. y R.R.Gonzales (2002). Flora Virtual de la Amazonia Peruana: Clave de Identificación de Angiospermas y Gimnospermas Website. [actualizado Agosto 2002; citado 25 Oct 2004]. Disponible en: <http://www.geocities.com/gymanPeru>
- Trelease, W. & T. G. Yuncker, 1950. Piperac. N. South Amer., p. 110 Missouri Botanical Garden - TROPICOS Bibliography Data Base
- Arroyo Acevedo J.L. Efectos del extracto acuoso de las hojas de *Piper angustifolium* R&P (Matico) sobre la úlcera gástrica en animales de experimentación [Tesis doctoral]. Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM. Lima; 1998.
- Parmar, V.S., Jain, S.C., Bisht, K.S., Jain, R., Taneja, P., Jha, A., Tyagi, O.M., Prasad,

- A.K., Wengel, J., Olsen, C.E., Boll, P.M., Phytochemistry of genus *Piper*. *Phytochemistry* 1997; 46:597–673.
- Ranea Arroyo S. Llantén *Plantago*. En Valero Santiago AL & Cadahía García A Editores. *Polinosis: Polen y alergia*. España: Mra ediciones S.L. Laboratorios Menarini S.A.; 2002 pag. 79-82.
- Pinedo P., Rengifo S., Cerruti S. *Plantas Medicinales de la Amazonía Peruana Estudio de su Uso y Cultivo* Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. Iquitos: IIAP; 1997.
- Samuelsen AB. The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major* L. A review. *J Ethnopharmacol.* 2000 Jul;71(1-2):1-21.
- Vázquez-Yanes, C., A. I. Batis Muñoz, M. I. Alcocer Silva, M. Gual Díaz y C. Sánchez Dirzo. 1999. Árboles y arbustos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y la reforestación. Reporte técnico del proyecto J084. CONABIO - Instituto de Ecología, UNAM. Pag. 201-204.
- Martínez M.J. et al. Evaluación de la actividad antimicrobiana del *Psidium guajava* L. (guayaba) *Rev Cubana de Plant Med* 1997; 2(1): 12-14.
- Carvalho, A. de A.T., M.C.C. Sampaio, F.C. Sampaio, A.F.M. de Melo, K.X. da F.R. de Sena, A. de A. Chiappeta & J.S. HiginoTavares Actividade Antimicrobiana in vitro de Extratos Hidroalcoólicos de *Psidium guajava* L. sobre Bactérias Gram-Negativas *Acta Farm. Bonaerense* 2002; 21 (4): 255-8.
- Oh WK, Lee CH, Lee MS, Baea EY, Sohn CB, Oh H, Kim BY, Ahn JS Antidiabetic effects of extracts from *Psidium guajava* *Journal of Ethnopharmacology* 2005; 96 (3): 411–415.
- Taylor L. *Schinus molle*. En *Herbal Secrets of the Rainforest*. 2nd edition. Austin: Sage Press, Inc.; 2002.
- Centro de Investigación, Educación y Desarrollo (CIED) Molle. [citado 5 Oct 2004]. Disponible en <http://www.ciedPerú.org/productos/molle.htm>
- Brazilian Peppertree Plant Database Chemical Composition Raintree Nutrition, Inc. 2004 Carson City, Nevada 89701. [citado 10 Nov 2004]. Disponible en: <http://www.rain-tree.com/brazilian-peppertree.chemicals.pdf>
- Díaz Alpa y Torres Domínguez Actividad Antibacteriana in vitro del aceite esencial de *Schinus molle* [Tesis]. Facultad de Farmacia y Bioquímica UNMSM. Lima; 1998.
- Tormo Molina Rafael Universidad de Extremadura. Departamento de Botánica. Lecciones hipertextuales de Botánica Fabaceae ESPAÑA [citado 2 Set 2004]. Disponible en: <http://www.unex.es/botanica/LHB/rosidae/fabaceae.htm>.
- Bianchini F & Carrara Pantano A. Guía de plantas y flores. 5^{ta} ed. Barcelona: Grijalbo; 1981.
- Washington State Weed Board Spanish broom (*Spartium junceum* L.) [citado 20 Nov 2004]. Disponible en: <http://www.nwcb.wa.gov/INDEX.htm>
- Macbride, J. F. Leguminosae, *Flora of Perú* Publications of the Field Museum of Natural History, Botanical Series 1943; 13(3/1): 1--506
- Martícorena, C. & M. Quezada Catálogo de la Flora Vascular de Chile Gayana, Botánica 1985; 42: 1-157.

- Millspaugh CF American Medicinal Plants. Toronto: General Publishing Co.; 1974.
- Duke, James A. Handbook of phytochemical constituents of GRAS herbs and other economic plants. Boca Raton, FL.: CRC Press.; 1992.
- Yesilada E, Tsuchiya K, Takaishi Y, Kawazoe K. Isolation and characterization of free radical scavenging flavonoid glycosides from the flowers of *Spartium junceum* by activity-guided fractionation. *J Ethnopharmacol.* 2000; 73(3):471-8.
- Paulo M de Q, Barbosa-Filho JM, Lima EO, Maia RF, Barbosa Rde C, Kaplan MA. Antimicrobial activity of benzylisoquinoline alkaloids from *Annona salzmanii* D.C. *J Ethnopharmacol.* 1992; 36(1):39-41.
- Silva Delgado H. et al. Plantas Medicinales de la Amazonía Peruana Utilizadas por los Curanderos, Chamanes y Herbolarios con fines Antiinflamatorios Iquitos: IPSS; 1998.
- Decosterd LA, Hoffmann E, Kyburz R, Bray D, Hostettmann K. A new phloroglucinol derivative from *Hypericum calycinum* with antifungal and in vitro antimalarial activity. *Planta Med.* 1991 Dec; 57(6):548-51.
- Rath G, Potterat O, Mavi S, Hostettmann K. Xanthones from *Hypericum roeperanum*. *Phytochemistry.* 1996 Sep;43(2):513-20.
- Rocha L, Marston A, Kaplan MA, Stoeckli-Evans H, Thull U, Testa B, Hostettmann K. An antifungal gamma-pyrone and xanthones with monoamine oxidase inhibitory activity from *Hypericum brasiliense*. *Phytochemistry.* 1994 Aug;36(6):1381-5.
- Mukherjee PK, Saritha GS, Suresh B. Antimicrobial potential of two different *Hypericum* species available in India. *Phytother Res.* 2002 Nov;16(7):692-5.
- Lopez A, Hudson JB, Towers GH. Antiviral and antimicrobial activities of Colombian medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2001 Oct;77(2-3):189-96.
- Omar S, Lemonnier B, Jones N, Ficker C, Smith ML, Neema C, Towers GH, Goel K, Arnason JT. Antimicrobial activity of extracts of eastern North American hardwood trees and relation to traditional medicine. *J Ethnopharmacol.* 2000 Nov;73(1-2):161-70.
- Danelutte AP, Lago JH, Young MC, Kato MJ Antifungal flavonones and prenylated hydroquinones from *Piper crassinervum* Kunth. *Phytochemistry.* 2003; 64: 555-559
- Tirillini B, Velasquez ER, Pellegrino R. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Piper angustifolium*. *Planta Med.* 1996; 62(4):372-3
- Ngono Ngane A, Biyiti L, Bouchet P, Nkengfack A, Amvam Zollo PH. Antifungal activity of *Piper guineense* of Cameroon. *Fitoterapia.* 2003 Jul;74(5):464-468.
- Vasques da Silva R, Navickiene HM, Kato MJ, Bolzani Vda S, Meda CI, Young MC, Furlan M. Antifungal amides from *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry.* 2002; 59(5):521-7
- Navickiene HM, Alecio AC, Kato MJ, Bolzani VD, Young MC, Cavalheiro AJ, Furlan M. Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry.* 2000; 55(6):621-6
- Alecio AC, da Silva Bolzani V, Young MC, Kato MJ, Furlan M. Antifungal amide from leaves of *Piper hispidum*. *J Nat Prod.* 1998; 61(5):637-9
- Lopez A, Ming DS, Towers GH. Antifungal activity of benzoic acid derivatives from *Piper*

- lanceaefolium*. J Nat Prod. 2002; 65(1):62-4.
- Freixa B, Vila R, Ferro EA, Adzet T, Canigual S. Antifungal principles from *Piper fulvescens*. Planta Med. 2001 Dec; 67(9):873-5.
- Holetz FB, Pessini GL, Sanches NR, Cortez DA, Nakamura CV, Filho BP Screening of some plants used in the Brazilian folk medicine for the treatment of infectious diseases. Mem Inst Oswaldo Cruz. 2002 Oct;97(7):1027-31.
- Rodríguez Pargas A, León M, Hernández A, Junco J Actividad antifúngica in vitro de una crema de *Plantago major* L. Rev Cubana Plant Med 1996; 1(3): 9-12.
- Grayer RJ, Kokubun T. Plant--fungal interactions: the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants. Phytochemistry. 2001 Feb;56(3):253-63.
- VanEtten H, Mansfield J, Bailey J, Farmer E. Two classes of plant antibiotics: phytoalexins versus "phytoanticipins" The Plant Cell 1994; 6: 1191-1192.
- Osbourn AE. Preformed antimicrobial compounds and plant defense against fungal attack The Plant Cell 1996; 8: 1821-1831.
- Odds FC, Brown AJ, Gow NA. Antifungal agents: mechanisms of action. Trends Microbiol. 2003; 11(6):272-9.
- Balkis MM, Leidich SD, Mukherjee PK, Ghannoum MA. Mechanisms of fungal resistance: an overview. Drugs. 2002;62(7):1025-40.
- Mellado E, Cuenca-Estrella M, Rodríguez-Tudela JL. Clinical relevance of mechanisms of antifungal drug resistance in filamentous fungi Enferm Infecc Microbiol Clin. 2002 ;20(10):523-29.
- Kontoyiannis DP, Lewis RE. Antifungal drug resistance of pathogenic fungi. Lancet. 2002; 359(9312):1135-44.
- Abuhammour W, and Eyassu Habte-Gaber E, Newer Antifungal Agents Indian Journal of Pediatrics 2004; 71: 253-259.
- Denning DW. Echinocandin antifungal drugs Lancet 2003; 362: 1142–51.
- Georgopapadakou NH. Update on antifungals targeted to the cell wall: focus on beta-1,3-glucan synthase inhibitors. Expert Opin Investig Drugs. 2001 Feb;10(2):269-80.
- Maertens JA, Boogaerts MA. Fungal cell wall inhibitors: emphasis on clinical aspects. Curr Pharm Des. 2000 Jan;6(2):225-39.
- Sanglard D. Clinical relevance of mechanisms of antifungal drug resistance in yeasts. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2002 Nov;20(9):462-9.
- Borges-Walmsley MI, McKeegan KS and R. Walmsley AR Structure and function of efflux pumps that confer resistance to drugs Biochem. J. 2003; 376: 313–338.
- Debono M, Gordee RS. Antibiotics that inhibit fungal cell wall development. Annu Rev Microbiol. 1994; 48:471-97.
- Ruiz-Herrera J, San-Blas G. Chitin synthesis as target for antifungal drugs. Curr Drug Targets Infect Disord. 2003 Mar;3(1):77-91.
- Fostel JM, Lartey PA. Emerging novel antifungal agents. Drug Discov Today. 2000 Jan; 5(1):25-32.
- Tanner W, Gentzsch M, Immervoll T, Scheinost A, Strahl-Bolsinger S. Fungal

- glycoproteins and their biosynthetic pathway as potential targets for antifungal agents. *Acta Biochim Pol.* 1995; 42(4):505-8.
- Vicente MF, Basilio A, Cabello A, Pelaez F. Microbial natural products as a source of antifungals. *Clin Microbiol Infect.* 2003 Jan;9(1):15-32.
- Georgopapadakou NH. Antifungals targeted to sphingolipid synthesis: focus on inositol phosphorylceramide synthase. *Expert Opin Investig Drugs.* 2000 Aug; 9(8):1787-96.
- Wills E, Redinbo M, Perfect J, Del Poeta M. New potential targets for Antifungal development *Emerging Therapeutic Targets* 2000; 4(3):1-32.
- Sturtevant J. Translation elongation-3-like factors: are they rational antifungal targets? *Expert Opin Ther Targets.* 2002 Oct; 6(5):545-53.
- Cardenas ME, Sanfridson A, Cutler NS, Heitman J. Signal-transduction cascades as targets for therapeutic intervention by natural products *Trends Biotechnol* 1998; 16(10): 427-433.
- Rojas R, Bustamante B, Bauer J, Fernández I, Albán J, Lock O. Antimicrobial activity of selected Peruvian medicinal plants *J Ethnopharmacol.* 2003; 88 (2-3): 199–204.
- Cantón Lacasa E, Martín-Mazuelos E, Espinel-Ingroff A. Pruebas estandarizadas para el estudio de la sensibilidad antifúngica. En: *Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica. Revista Iberoamericana de Micología Bilbao* 2001
- Padmaja V, Thankamany V, Hara N, Fujimoto Y, Hisham A. Biological activities of *Annona glabra*. *J Ethnopharmacol.* 1995 Aug 11; 48(1):21-4.
- Bidens pilosa* Biological activities Raintree Nutrition, Inc. Carson City, NV 89701. 2004.[citado 10 Nov 2004]. Disponible en: <http://www.rain-tree.com/picao-preto-activity.pdf>
- Hladun NP, Bondarenko AS, Nahorna SS, Smyrnova OV. [Investigation of the activity of the preparation cerbiden against *Candida* spp.] *Mikrobiol Z.* 2002;64(6):57-61.
- Ali-Shtayeh MS, Abu Ghdeib SI. Antifungal activity of plant extracts against dermatophytes. *Mycoses.* 1999;42(11-12):665-72.
- Ficker CE, Arnason JT, Vindas PS, Alvarez LP, Akpagana K, Gbeassor M, De Souza C, Smith ML. Inhibition of human pathogenic fungi by ethnobotanically selected plant extracts. *Mycoses* 2003;46(1-2):29-37.
- Li XC, Ferreira D, Jacob MR, Zhang Q, Khan SI, ElSohly HN, Nagle DG, Smillie TJ, Khan IA, Walker LA, Clark AM. Antifungal cyclopentenodiones from *Piper coruscans* *J Am Chem Soc* 2004, 126(22): 6872-6873.
- Camacho-Hernandez IL, Cisneros-Rodriguez C, Uribe-Beltran MJ, Rios-Morgan A, Delgado-Vargas F. Antifungal activity of fruit pulp extract from *Psidium sartorianum* *Fitoterapia* 2004; 75 (3-4): 401–404.
- Huang J, Zhang Z. Microwave-assisted extraction of quercetin and acid degradation of its glycosides in *Psidium guajava* leaves. *Anal Sci.* 2004 Feb;20(2):395-7.
- Li J, Chen F, Luo J. [Article in Chinese] [GC-MS analysis of essential oil from the leaves of *Psidium guajava*] *Zhong Yao Cai.* 1999 Feb;22(2):78-80.
- Schmourlo G, Mendonca-Filho RR, Alviano CS, Costa SS. Screening of antifungal agents using ethanol precipitation and bioautography of medicinal and food plants *J*

Ethnopharmacol 2005; 96(3): 563-568.

Brazilian Peppertree Plant Database Biological Activities Raintree Nutrition, Inc. 2004
Carson City, Nevada 89701.

Gundidza M. Antimicrobial activity of essential oil from *Schinus molle* Linn. Cent Afr J Med. 1993 Nov;39(11):231-4.

ANEXOS

Anexo 1: Constancia de identificación de las plantas de la tesis

CONSTANCIA

LA DIRECTORA Y CURADORA DEL HERBARIO WITTENBERGER DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA, A TÍTULO PERSONAL, DECLARA CONSTANCIA QUE:

Las muestras vegetales recibidas por los autores JULIO REYNALDO RUIZ OTEROZ y MARIA ELENA HUAMANI ACHATA, miembros de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, ha sido determinada, como sigue:

1. *Ammonia charadrioides* HBK. (CANNONACEAE) "Charadriaceae"
2. *Ammonia maritima* L. (CANNONACEAE) "Charadriaceae"
3. *Polium pilosum* L. (ASTERACEAE) "Caulis"
4. *Hypericum dentiglobum* (STEMMACEAE/HYPERICACEAE) "Chenopodiaceae"
5. *Asplenium scolopendria* L. (POLYPODIACEAE) "Polypodiaceae"
6. *Mimosa cordifolia* Humboldt & Bonpland (MIMOSACEAE) "Mimosaceae"
7. *Piper* spp. (PIPERACEAE) "Mentaceae"
8. *Plantago major* L. (PLANTAGINACEAE) "Umbellaceae"
9. *Polium pilosum* L. (STEMMACEAE) "Caulis"
10. *Schizanthus molle* L. (FABACEAE) "Papilionaceae"
11. *Sporobolus juncea* L. (POACEAE) "Bambusoideae"

Declarado por: **Dña. Dra. Graciela Villegas Segura**
Se extiende la presente constancia a solicitud de los interesados, para los fines que
requieran con esta fecha.

Lima, 09 de octubre del 2018


Dra. Graciela Villegas Segura

Anexo 2: Análisis fitoquímico preliminar del extracto acuoso de las plantas con

actividad antifúngica

ESPECIE	Extracto acuoso	Fruto	Flor	Hoja	Planta entera	Resaca
<i>Agave attenuatus</i> (PA)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Agave attenuatus</i> (H)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Agave attenuatus</i> (C)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Agave attenuatus</i> (PA)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Agave attenuatus</i> (H)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Agave attenuatus</i> (C)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Agave attenuatus</i> (PA)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Agave attenuatus</i> (H)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Agave attenuatus</i> (C)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Agave attenuatus</i> (PA)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)

TABLA N°7: ESTUDIO FITOQUIMICO DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS PLANTAS MÁS ACTIVAS.

Partes estudiadas: C, corteza; H, hojas; PA, partes aéreas; PE, planta entera
(-): Ausencia; (+/-): Ligera presencia; (+): Presencia.